

Aus dem Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Prof. Dr. Th. Schliesser

**Untersuchungen zur Prüfungsmethodik von
Flächendesinfektionsmitteln auf bakterizide Wirkung.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
an dem Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Wolfgang Wallbaum
Tierarzt aus Löwenberg/Schlesien

Gießen 1972

Aus dem Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus Liebig-Universität zu Gießen
Direktor: Prof. Dr. Th. Schliesser

**Untersuchungen zur Prüfungsmethodik von
Flächendesinfektionsmitteln auf bakterizide Wirkung.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
an dem Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Wolfgang Wallbaum
Tierarzt aus Löwenberg/Schlesien

Gießen 1972

Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin in Gießen

Dekan: Professor Dr. E. Weiss

Berichterstatter: Professor Dr. Th. Schliesser

Tag der mündlichen Prüfung: 13. 12. 1972



	Seite
A. Einleitung	1
B. Literatur	3
I. Allgemeines	3
II. Einflüsse auf die Wirkung von Desinfektionsmitteln	5
1. Das Desinfektionsmittel	5
1.1. Formaldehyd	7
1.2. Halogenhaltige Stoffe	8
1.3. Phenol- und Kresolderivate	9
1.4. Quartäre Ammoniumverbindungen	10
1.5. Amphotenside	11
2. Konzentration und Temperatur	12
3. Art der abzutötenden Keime	13
4. Zu desinfizierendes Material und dessen Stellung im Raum	14
5. Die Einwirkungszeit	16
6. Desinfektionsverfahren, Verdünnungsmittel und pH-Wert	16
III. Zur Prüfung von Desinfektionsmitteln	18
1. Die Suspensionsmethode	23
2. Die Keimträgermethode	26
C. Eigene Untersuchungen	
I. Vorversuche zur Prüfung einer Keimträgermethode	31
1. Material	31
1.1. Testkeime	31
1.2. Nährböden und Enthemmungsmittel	31
1.3. Desinfektionsmittel	34
1.4. Keimträger	36

	Seite
2. Methoden	37
2.1. Keimsuspension und Keimzahlbestimmung	37
2.2. Versuche mit 4 Keimträgern, 3 Teststämmen und 3 Desinfektionsmitteln	37
2.2.1. Versuchsreihe 1	37
2.2.2. Versuchsreihe 2	40
2.3. Versuche mit 2 Keimträgern, 3 Teststämmen und der Gebrauchskonzentration von 11 Desinfektionsmitteln unter Serumbelastung	40
3. Ergebnisse der Vorversuche	43
3.1. Ergebnisse der Versuchsreihe 2.2.1.	43
3.2. Ergebnisse der Versuchsreihe 2.2.2.	46
3.3. Ergebnisse des Versuches 1.2.3.	51
II. Vergleichende Untersuchungen der DGHM-Methode zur Spray-Desinfektion und eines Abdruckverfahrens	54
1. Material	54
1.1. Testkeim	54
1.2. Versuchspräparate	55
1.3. Nährböden und Enthemmungsmittel	55
1.3.1. Für das DGHM-Verfahren zur Spray-Desinfektion	55
1.3.2. Für das Abdruckverfahren	55
1.4. Keimträger	56
1.4.1. Für das DGHM-Verfahren zur Spray-Desinfektion	56
1.4.2. Für das Abdruckverfahren	56

	Seite
2. Methoden	57
2.1. Keimsuspension und Keimzahlbestimmung	57
2.2. DGHM-Verfahren zur Spray-Desinfektion	57
2.3. Abdruckverfahren	58
3. Ergebnisse	60
III. Desinfektionsversuche in verschiedenen Modifikationen des Bouillonverfahrens	66
1. Material	66
1.1. Testkeim	66
1.2. Nährböden und Enthemmungsmittel	66
1.3. Versuchspräparate	67
1.4. Keimträger	67
1.4.1. Für Verfahren 1	67
1.4.2. Für Verfahren 2	67
1.4.3. Für Verfahren 3	68
2. Methoden	68
2.1. Keimsuspension und Keimzahlbestimmung	68
2.2. Verfahren 1	68
2.3. Verfahren 2	69
2.4. Verfahren 3	71
3. Ergebnisse	71
D. Besprechung der Ergebnisse	79
E. Zusammenfassung	89
F. Literaturverzeichnis	92

A. Einleitung

Mit der sich vollziehenden Wandlung des landwirtschaftlichen Betriebes vom "klassischen Bauernhof" zur modernen Produktionsanlage pflanzlicher und tierischer Lebensmittel hat sich auch die Form der landwirtschaftlichen Tierhaltung wesentlich verändert. Die Zuchtauswahl nach Gesichtspunkten der Fleisch-, Milch-, Legeleistung, Schnelligkeit etc. hat die Tiere anfälliger gegen Störungen unterschiedlichster Art gemacht. Die auch bei uns im letzten Jahrzehnt aufgetretene Tendenz zur Massentierhaltung macht die Schaffung hygienisch optimaler Stallbedingungen erforderlich. So ist zu einer Zeit, in der Tierseuchen in der Bundesrepublik nur noch vereinzelt auftreten, das Interesse an Desinfektionsmitteln erneut erwacht.

Im Gegensatz zur Seuchendesinfektion, bei der ein bestimmter Keim abgetötet werden soll, ist bei der prophylaktischen Desinfektion eine allgemeine Keimverminderung erwünscht (WILLINGER u. THIEMANN, 1970).

Die Stallbedingungen stellen hohe Anforderungen an die Desinfektionsmittel. Deshalb sollte durch eine vorausgehende Prüfung festgestellt werden, ob sie für eine Stalldesinfektion geeignet sind. Aber auch die Eignung für andere Bereiche veterinärmedizinischer Tätigkeit sollte nach einheitlichen Methoden geprüft werden, um dem Tierarzt und dem Verbraucher eine Hilfe bei der Auswahl des für seine Zwecke günstigsten Desinfektionsmittels zu geben. Hinweise auf das Wirkungsvermögen chemischer Desinfektionsmittel unter den Verhältnissen der Praxis sind entweder im Direktversuch am zu desinfizierenden Objekt oder in Keimträgerversuchen zu erhalten, die die Praxisbedingungen weitgehend nachahmen. Nur letzteres Verfahren

bietet aber Aussicht auf die Möglichkeit einer Standardisierung, die notwendig ist, um Versuchsergebnisse vergleichbar und reproduzierbar zu machen. Auf der Suche nach hierzu geeigneten Methoden galt diese Arbeit der Erprobung und dem Vergleich einiger verschiedener Keimträgerverfahren.

B. Literatur

I. Allgemeines

Schon im ältesten Schrifttum aus geschichtlicher Zeit finden wir Hinweise auf Mittel und Verfahren, die dem Zwecke dienten, die Ausbreitung von Seuchen einzuschränken. Jedoch wurden entsprechende Maßnahmen nur selten systematisch getroffen.

Erst seit der Entdeckung der Mikroorganismen als Krankheitserreger spielt die Desinfektion im heutigen Sinne eine wesentliche Rolle bei der Bekämpfung ansteckender Krankheiten bei Mensch und Tier. Sie hat die Abtötung pathogener Keime zum Ziel, sei es, im prophylaktischen Sinne eine Erkrankung oder im Sinne der Seuchenbekämpfung die Ausbreitung einer infektiösen Krankheit zu verhindern. Zu den pathogenen Keimen sind hier auch fakultativ pathogene Organismen und deren Dauerformen zu rechnen. Gerade die fakultativ pathogenen Keime beginnen in der letzten Zeit im Zuge der immer stärker werdenden Intensivierung der Tierhaltung an Bedeutung zu gewinnen. WILLINGER und THIEMANN (1970) schreiben die sogenannte "Stallmüdigkeit", die sich trotz günstiger hygienischer Bedingungen bei Haltung von Tieren der gleichen Art über einen längeren Zeitraum in denselben Räumen in einem Leistungsabfall äußert, einer Anreicherung von für diese Tierart fakultativ pathogenen Keimen zu. Hierdurch sei ein ständig erhöhter Energiebedarf des Abwehrsystems notwendig, der der erwünschten Leistung der Tiere verloren geht. Regelmäßige, prophylaktische Desinfektion kann hier Abhilfe schaffen.

Daneben ist besonders in der modernen Massentierhaltung eine regelmäßige, vorbeugende Behandlung der Räume und Tiere notwendig, um Bestände vor Seuchen, die hier

katastrophale wirtschaftliche Folgen haben würden, wirksam zu schützen.

Pathogene Keime können sich je nach ihrer Widerstandsfähigkeit eine bestimmte Zeit lang in der Umwelt lebend und infektionstüchtig erhalten. Ist eine Auswahl solcher Keime oder deren Dauerformen an irgendeinem Gegenstand oder in irgendeinem Stoff in der Umgebung empfänglicher Tiere vorhanden, so können diese sich durch Berührung oder Aufnahme infizieren und die Erreger wiederum durch Ausscheidungen direkt oder indirekt auf andere Tiere übertragen. Auch nicht empfängliche Tiere der gleichen Art, anderer Tierarten oder der Mensch kommen u. U. als Überträger in Frage. Diese Infektionskette zu unterbrechen, ist die Aufgabe der Desinfektion. Sie wird sich infolgedessen auf die Entfernung der Erreger, sowie ihre Abtötung an Gegenständen, in Flüssigkeiten, Gasen oder anderen Stoffen richten, die für die Erregerübertragung eine Rolle spielen.

Wenn einerseits zu einer wirksamen Desinfektion eine Kenntnis des Infektionsweges und der Eigenschaften des Erregers notwendig ist, so ist andererseits zur Wahl eines wirksamen und für den gewünschten Zweck günstigen Desinfektionsmittels das Wissen um die Grenzen seines Anwendungsbereiches Voraussetzung. Dieses Wissen sollten die Angaben auf den Verbraucherpackungen der Desinfektionsmittel oder zugehörigen Prospekten verlässlich vermitteln, damit der Verbraucher aus der Vielzahl der angebotenen Desinfektionsmittel das für seine Zwecke optimale in Bezug auf Wirkung und Preis auswählen kann.

Die Einführung der Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel, herausgegeben von der DGHM (ADAM et al., 1969) und die Veröffentlichung der Ergebnisse der nach diesen Richtlinien geprüften Desinfektionsmittel in Listen bedeuten einen großen Fortschritt in dieser Richtung.

Dennoch kann zum heutigen Zeitpunkt eine Prüfung nach den "DGHM-Richtlinien" nur ein Teilwissen über die Eigenschaften eines Desinfektionsmittels bieten. Es bleiben z. B. Fragen der Viruzidie, Toxizität, Korrosivität, Kapillaraktivität, Lager-, Wärme- und Kältebeständigkeit, Schmutztragevermögen usw. offen, die bis jetzt noch nicht in die Prüfungsrichtlinien aufgenommen sind. Zum anderen sind die Prüfungsmethoden im wesentlichen nach den Bedürfnissen der ärztlichen Praxis bzw. der Krankenhäuser angelegt. Ihr Aussagewert über die Eignung eines Desinfektionsmittels z. B. für Zwecke der Lebensmittelindustrie oder für die Stalldesinfektion in einem landwirtschaftlichen Betrieb ist daher nur begrenzt. Aus diesem Grunde erscheint es notwendig, Prüfungsverfahren zu entwickeln, die den besonderen Erfordernissen der Anwendung von Desinfektionsmitteln im tierärztlichen Tätigkeitsbereich besser Rechnung tragen.

II. Einflüsse auf die Wirkung von Desinfektionsmitteln

1. Das Desinfektionsmittel

Die Suche nach Desinfektionsmitteln, die die gewünschten Eigenschaften besitzen, nämlich ein möglichst breites Wirkungsspektrum bei sparsamer Anwendung und möglichst geringen nachteiligen Eigenschaften, hat zu einem reichen Angebot von Desinfektionsmitteln geführt. Diese enthalten im wesentlichen einen oder mehrere bewährte Wirkstofftypen, vermischt mit einer mehr oder weniger großen Anzahl von Korrigentien, welche die Wirkung verstärken oder nachteilige Eigenschaften abschwächen sollen.

Chemische Desinfektionsmittel können nur in Form einer chemischen Reaktion, d. h. durch Eingehen einer chemischen

Bindung mit Substanzen des Keimes eine keimtötende Wirkung erzielen. SCHMITZ (1967) stellt nach der Bindungsart eine Systematik der germiciden Stoffe auf und unterscheidet dabei:

1. Elektrolyt-germicide Stoffe (Ionenbindung - reversibel)
2. Adsorptiv-germicide Stoffe (intermolekulare Bindung - reversibel)
3. Reaktiv-germicide Stoffe (covalente (= Atom-) Bindung - irreversibel).

Dabei ist die Atombindung die am schwierigsten lösbare Bindung, also diejenige, die angestrebt wird, da sie durch keine zufällig bei der Desinfektion herrschenden Bedingungen rückgängig zu machen ist. Die Ionenbindung kann schon z. B. durch Verschiebung des pH-Wertes, die intermolekulare Bindung am leichtesten (z. B. schon durch eine Konzentrationsänderung) gelöst werden.

Zu den Elektrolyt-Germiciden gehören die quartären Ammoniumbasen. Kationische und ampholytische Tenside können gleichzeitig als Elektrolyt- bzw. Adsorptiv-Germicide bezeichnet werden. Reaktiv-Germicide sind z. B. Formaldehyd und Chlor.

Als Angriffspunkte an der Bakterienzelle nimmt WEINBERG (zit. n. SCHMITZ, 1967) folgende Möglichkeiten an:

1. Eiweißdenaturierung, 2. Öffnung der Lipoidmembran,
3. Blockierung der Eiweißsynthese, 4. Blockierung der Zellwandmucopolysaccharidsynthese und 5. Störung des Stoffwechsels durch falsche Reaktionspartner.

Neben der mikrobiziden Wirkung des Wirkstoffes spielt die Oberflächenaktivität der Desinfektionslösungen eine bedeutende Rolle für das Eindringungsvermögen in poröse Keimunterlagen. SCHMITZ (1967) hält einen gleichzeitig mikrobizid wie oberflächenaktiv wirkenden Desinfektions-

stoff für besonders günstig, da hier das Auftreffen der Wirkstoffmoleküle auf den Mikroorganismus nicht dem von der Konzentration abhängigen Zufall überlassen bleibt, sondern der Wirkstoff selbst sich bevorzugt an den Grenzflächen des Mikroorganismus aktiv anheftet. Dem gegenüber macht HEICKEN (1951) darauf aufmerksam, daß es an großen Flächen durch Adsorption und chemische Bindung zu einer relativ großen Verarmung an bakterizider Substanz in dem Desinfektionsmittelfilm kommt. Das würde wiederum bedeuten, daß bei porösen Keimunterlagen mit großer Oberfläche ein großer Anteil des Wirkstoffes schon an die Keimunterlage gebunden wird und nur noch ein geringer Anteil tatsächlich bakterizide Wirkung entfalten kann.

Nach HEICKEN (1951) wirkt ein Desinfektionsmittel unter praktischen Verhältnissen umso zuverlässiger, je indifferenter es gegenüber dem infizierten Objekt ist.

1.1. Formaldehyd

Formaldehyd ist eines der "klassischen" Desinfektionsmittel, das gute bakterizide, tuberkulozide, viruzide und fungizide Wirkung besitzt. Es ist ein Gas, das eine hohe Löslichkeit in Wasser besitzt. Formaldehyd in Wasser gelöst wird als Formalin bezeichnet und ist, methanolstabilisiert, mit einem Formaldehydgehalt von 37 % (Formaldehyd solutus DAB 7) im Handel erhältlich. Formalin ist eine klare Flüssigkeit und riecht stechend.

Seiner guten Wirkung stehen aber erhebliche Nachteile gegenüber. So ist es z. B. schwierig, Formalin längere Zeit zu lagern, ohne daß Änderungen in der Qualität der Lösung eintreten. Bei niedrigen Temperaturen, aber auch schon bei Zimmertemperatur, neigt das Formalinkonzentrat zur

Bildung von Paraformaldehyd, einem Polymerisierungsprodukt, das nur noch langsam kleine Mengen Formaldehyd freisetzt und somit die Wirksamkeit vermindert. Die schleimhautreizenden Eigenschaften des Formalins, der starke Geruch und die hohe Toxizität erschweren die praktische Desinfektion erheblich und machen Schutzmaßnahmen für Vieh und Desinfektor erforderlich. Außerdem wird Formalin als Eiweiß denaturierendes Mittel durch eiweißhaltige Stoffe in der Wirksamkeit eingeschränkt.

1.2. Halogenhaltige Stoffe

Hierunter fallen in erster Linie die anorganischen und organischen Chlorverbindungen wie Natriumhypochlorit und Chloramine. Bei der Dosierung von Chlor und chlorabscheidenden Verbindungen geht man von dem "verfügbaren freien Chlor" aus (WALLHÄUSSER u. SCHMIDT, 1967). Dieses wird üblicherweise in einer Jod-Stärke-Titration festgestellt, wobei jedes freigesetzte Jodatome einem Chloratom äquivalent gesetzt wird. Tatsächlich setzt jedes Chloratom jedoch 2 Jodatome aus dem Kaliumjodid frei. Somit ist also das "verfügbare Chlor" nicht mit dem Chlorgehalt gleichzusetzen (SYKES, 1958). Chlorgas ist äußerst giftig und wirkt noch in starken Verdünnungen mit Luft schädigend auf Schleimhäute und Atmungsorgane. In den wässrigen Lösungen der Desinfektionsmittel, die kühl und dunkel aufbewahrt werden müssen, sind diese toxischen Effekte jedoch minimal. Dies macht die Chlorpräparate geeignet für eine Verwendung in Haushalt (SYKES, 1958), Molkereien und allgemein in Lebensmittelbetrieben. Einige Chlorpräparate werden auch für die Stalldesinfektion empfohlen. Hypochlorite sind gegen ein weites Spektrum von Organismen wirksam, auch gegen Viren, besitzen dagegen aber nur geringe Wirksamkeit gegen Sporen und keine gegenüber Mykobakterien (PUBL. HEALTH LAB. SERV. COMM., 1965). Die Wirksamkeit der

Chlorpräparate ist in starkem Maße temperatur- und pH-abhängig. Höhere Temperaturen erhöhen die Wirksamkeit, ebenso verkürzen niedrige pH-Werte die nötige Desinfektionszeit. Selbst kleine Mengen von organischem Material können die "Desinfektionskraft" der Mittel stark herabsetzen (WALLHÄUSSER u. SCHMIDT, 1967).

Jod- und Brom-haltige alkoholische Lösungen werden für die Hautdesinfektion in Medizin und Veterinärmedizin seit langem verwendet. In neuerer Zeit wird Jod für andere Desinfektionszwecke auch in Form von sog. "Jodophoren", organischen Jodverbindungen, auf den Markt gebracht. Ihre Wirkung beruht auf der langsamen Freisetzung von Jod in Verbindung mit anionischen Detergentien. Ihr Preis und ihre Empfindlichkeit gegenüber organischem Material scheinen jedoch ihren allgemeinen Gebrauch zu begrenzen (PUBL. HEALTH. LAB. SERV. COMM., 1965).

1.3. Phenol- und Kresolderivate

Phenole und deren Derivate sind die wirksamen Komponenten einer großen Zahl von Desinfektionsmitteln. 1834 entdeckt, wurde Carbolsäure erst 1860 von KUCHENMEISTER zur Behandlung von Wunden empfohlen. LISTER benutzte Phenol bereits 1867 zur Antisepsis in der Chirurgie (REDDISH, 1954). Heute ist die Carbolsäure durch wirksamere Phenol- und Kresolderivate verdrängt worden. Alkyl-Phenole und -Kresole zeigen eine steigende Desinfektionswirkung mit der Verlängerung der Alkylreste. Die Mischung der verschiedenen Alkyl-Phenole bzw. -Kresole ist im allgemeinen wirksamer als die Einzelkomponenten. Phenol ist in Wasser nur bis zu 7 % löslich und zeigt bakteriostatische bis bakterizide Wirkung. Sporen werden im allgemeinen nicht abgetötet. Je nach Präparat sind die tuberkuloziden und

fungiziden Eigenschaften mehr oder weniger stark ausgeprägt. Die Wirkung auf Viren ist unsicher (SYKES, 1958).

Allgemein beruht die Wirkung der Phenole wohl auf ihrer Fähigkeit, Lipide und Polysaccharide zu lösen und auf eiweißfällenden Eigenschaften. Erhöhung der Temperatur und Salzzusatz steigern, alkalischer pH und organische Substanzen wie Seifen, Serum, Blut und Milch reduzieren die Wirksamkeit.

Kresole sind in Wasser nur wenig löslich, lassen sich aber in Seifen gut emulgieren (WALLHÄUSSER u. SCHMIDT, 1967). Nach TILLEY und SCHAFFER (1925) spielt dabei die Art der verwendeten Seife und das Mengenverhältnis eine bedeutende Rolle. Seifenüberschuß führt zu einer starken Beeinträchtigung der Desinfektionswirkung. Wie die Phenole wirken auch Kresole nicht sporizid.

Nachteile beider Verbindungsgruppen ist ein starker, teer-ähnlicher Geruch und eine erhebliche Toxizität.

1.4. Quartäre Ammoniumverbindungen

Die quartären (oder auch quaternären) Ammoniumverbindungen gehören zu den Invertseifen oder Netzmitteln. Sie besitzen im Gegensatz zu den anionischen Seifen eine positiv geladene hydrophile Gruppe. Das Stickstoffatom ist mit vier, die Desinfektionswirkung beeinflussenden, Alkyl-, Aralkyl- oder heterozyklischen Radikalen verbunden und trägt die positive Ladung. Anionen können Halogene, Sulfate oder ähnliche Radikale sein. Verbindungen mit einer einfachen Ringstruktur gehören zu den wirksamsten Stoffen dieser Gruppe.

Die quartären Ammoniumverbindungen zeigen gute bakterizide und fungizide Wirkung, dagegen keine signifikante Wirkung

auf Mykobakterien. Nach PHILLIPS und WARSHOWSKY (1958) scheint der keimtötende Effekt dieser Mittel bei hohen Konzentrationen quartärer Ammoniumverbindungen und hoher Zelldichte durch Lysis hervorgerufen zu werden, während bei niedrigen Konzentrationen hierfür Enzyminhibition, Proteindenaturierung und andere Reaktionen von untergeordneter Bedeutung verantwortlich gemacht werden. Quartäre Ammoniumverbindungen riechen nicht unangenehm und sind mit Wasser gut mischbar. Unverträglich sind die meisten Mittel mit Seifen und starken Oxidationsmitteln. Sie besitzen eine große Adsorbierbarkeit an andere Stoffe wie auch an Bakterien, was bei Prüfungen bei anschließender unzureichender Inaktivierung leicht zu falschen Ergebnissen führen kann. Im alkalischen Bereich ist ihre Wirksamkeit besser als bei niedrigen pH-Werten, auch höhere Temperaturen erhöhen die Wirksamkeit. Organische Substanzen bewirken dagegen einen Wirkungsverlust (WALLHÄUSSER u. SCHMIDT, 1967).

1.5. Amphotenside

Amphotenside werden heute in vielen Bereichen zur Desinfektion angewendet. Es handelt sich dabei um Amionosäuren, die durch anionische Gruppen oberflächenaktiv nur reinigend, durch die kationische Gruppe mikrobizid wirken. Sie entfalten diese Wirkung gegen Bakterien, Viren und Pilze (REUSS, 1965) einschließlich der Tuberkulosebakterien (WAGNER und THIEL, 1955; THIEL, 1960). Nach WORATZ und WOHLRAB (1962) besitzen sie allerdings einen erheblichen bakteriostatischen Effekt, der bei der Prüfung derartiger Desinfektionsmittel berücksichtigt werden muß. Im Gegensatz zu den meisten anderen Desinfektionsmitteln sollen sie auch in Gegenwart diverser organischer Stoffe wirksam, nicht korrosiv und nur wenig toxisch sein. Resistenzbildung

konnte bei längerer Anwendung bei Bakterien nicht festgestellt werden (v.d. MOSEL, 1960). Es bestehen jedoch Unverträglichkeiten mit Seifen sowie anderen anionischen und nicht anionischen Detergentien (WALLHÄUSSER u. SCHMIDT, 1967).

2. Konzentration und Temperatur

Bei der Desinfektion wird die Abtötung unerwünschter Mikroorganismen angestrebt. Hierzu muß das Desinfektionsmittel in ausreichender Konzentration an die Keime herangebracht werden. In der Regel wird man sich dabei an die von der Herstellerfirma angegebenen Konzentrationen halten. Sind die zu desinfizierenden Flächen feucht, was z. B. in Schlachthöfen häufig der Fall sein dürfte, so besteht die Gefahr, daß das Desinfektionsmittel auf dem Objekt eine so große Verdünnung erfährt, daß der z. B. bakterizid wirkende Konzentrationsbereich des Desinfektionsmittels unterschritten wird und hierdurch nur eine bakteriostatische oder gar stimulierende Wirkung (LEISTNER, 1957) erreicht wird.

Starke Verschmutzung oder andere, die Desinfektion erschwerende Tatsachen, wie z. B. der Einschluß von Keimen in angetrocknetem organischem Material (Kot, Blut, Eiter, Milch) sollten, wenn sie nicht anders zu beseitigen sind, durch eine Erhöhung der Konzentration Berücksichtigung finden.

ENGELHARD und HOUTERMANN (1952) stellten fest, daß ein Desinfektionsmittel, das bei einer gewissen Temperatur noch fast unwirksam ist, bei einer nur um wenige Grade höheren Temperatur unter sonst gleichen Bedingungen beinahe quantitative Abtötung der Keime erzielen kann. Eine

Steigerung der Wirksamkeit chemischer Desinfektionsmittel durch ihre Anwendung bei höheren Temperaturen kann bei den meisten Desinfektionsmitteln erreicht werden, so daß bei höheren Temperaturen niedrigere Konzentrationen zur Abtötung der Keime ausreichen.

Niedrige Temperaturen bewirken dagegen im allgemeinen eine Reduzierung der Wirksamkeit. HEICKEN (1951) gibt als Faustregel an, daß bei 12°C etwa doppelt so lange und bei 4°C etwa 5 mal längere Desinfektionszeiten nötig sind als bei 20°C. ŠIMONEK (1965) stellte bei Untersuchungen verschiedener Desinfektionsmittel im Suspensionsversuch bei Zimmertemperatur und Temperaturen um und unter dem Gefrierpunkt bei -5°C einen durchschnittlichen Wirkungsverlust von ca. 20 % fest.

3. Art der abzutötenden Keime

Jedes Desinfektionsmittel weist ein gewisses Wirkungsspektrum auf, d. h. aus der Gesamtbreite bakterizider, fungizider, algizider, viruzider und antiparasitärer Desinfektionsmittelwirkungen werden nur mehr oder weniger große Ausschnitte erfaßt. Greift man die antibakterielle Wirkung heraus und betrachtet sie eingehender, so zeigt sich, daß auch die Wirkung auf Bakterien nicht einheitlich ist. So zeigen z. B. gramnegative Keime durchschnittlich eine höhere Desinfektionsmittelresistenz als grampositive. Mykobakterien und Bakteriensporen lassen sich sehr schwer desinfizieren (GRÜN, 1965). Andererseits besitzen auch innerhalb der Gruppen verschiedene Arten der gleichen Gattung und innerhalb der Arten die verschiedenen Stämme und Serotypen erheblich unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber Desinfektionsmitteln wie z. B. BODEN (1964) bei

der Prüfung der Phenolresistenz verschiedener Stämme von *Escherichia coli* feststellen konnte. Bei häufig wiederholter Desinfektion mit demselben Desinfektionsmittel kann es bei unzureichender Abtötung zur Auslese resistenter Linien kommen (KIRCHHOFF, 1964), so daß die anfänglich wirksame Konzentration schließlich ohne Wirkung bleibt.

4. Zu desinfizierendes Material und dessen Stellung im Raum

Untersuchungen mit verschiedenen Keimträgermaterialien haben gezeigt, daß die Desinfektionsmittel je nach Beschaffenheit des Materials und dessen Oberfläche zum Teil erhebliche Wirkungseinbußen erleiden. Dabei konnte die Erfahrung gemacht werden (MOUSSA, 1971), daß sich glatte Flächen nicht saugfähigen Materials gut desinfizieren lassen, wenn sie horizontal angeordnet sind. Mit zunehmender Neigung der Fläche nehmen sie in ihrer Desinfizierbarkeit ab bis hin zur vertikalen Stellung, bei der aufgrund des sehr schnell ablaufenden flüssigen Desinfektionsmittels schlechte Desinfektionsergebnisse erzielt werden.

Poröse Materialien verhalten sich im großen und ganzen entsprechend, durch ihre Saugfähigkeit wird jedoch zusätzlich ein mehr oder weniger großer Teil des aufgetragenen Desinfektionsmittels in das Material aufgenommen. Bei senkrechten Flächen könnte sich dies als ein Vorteil gegenüber glatten, nicht saugfähigen Oberflächen erweisen, da das Desinfektionsmittel länger am Ort einwirken kann. Keimträgerversuche zeigen jedoch, daß mit rauhem und porösem Material meistens schlechtere Desinfektionsergebnisse erzielt werden als mit glattem, nicht saugfähigem Material. Dafür können mehrere Tatsachen verant-

wortlich gemacht werden. Poröses Material besitzt bekanntlich eine sehr große Oberfläche. Nach HEICKEN (1951) kann dadurch infolge Adsorption des Wirkstoffes an das Material in extremen Fällen die Wirksamkeit des Desinfektionsmittels völlig aufgehoben werden. Die große Oberfläche bedingt gleichzeitig auch eine starke Verdunstung. Zum Nachweis der Verringerung der Desinfektionsmittelmenge durch Verdunstung bei Versuchen mit Keimträgern mit großen Oberflächen führte HOLZ (1958) folgenden Versuch durch: Er beschickte Filterpapier von 7 cm Durchmesser mit 300 mg 7,5 %iger Formalinlösung. Nach 5 Min. waren 40 mg, nach 10 Min. 70, nach 20 Min. 140, nach 100 Min. ca. 280 mg der aufgetragenen Flüssigkeit verdunstet. Das Desinfektionsmittel kann also nur eine begrenzte Zeit einwirken. HEICKEN (1949) erwähnt allerdings die Möglichkeit der Konzentrationserhöhung des Wirkstoffes im Material durch den Verdunstungsvorgang, was wiederum zu besseren Desinfektionserfolgen führen müßte. Daß die Feuchtigkeit der Keimunterlagen ebenfalls eine Rolle spielt, wurde schon unter B II. 2. erwähnt. Bei Untersuchungen über die Brauchbarkeit von Coniferenölen als Desinfektionsmittel stellten GUST und WITZENHAUSEN (1953) fest, daß für die Wirksamkeit dieser Stoffe der Wassergehalt der Keimunterlagen entscheidend war. Bei deren Anwendung als Aerosol konnte der Wirkstoff, nämlich Phenol, nur dort seine volle Wirksamkeit entfalten, wo er nach Lösung in Wasser in die Bakterienzelle aufgenommen werden konnte. Diese wenigen Beispiele zeigen, wie unterschiedlich die Eigenschaften des Materials und die räumliche Anordnung seiner Oberfläche den Desinfektionserfolg beeinflussen können.

5. Die Einwirkungszeit

Prüft man niedrige Desinfektionsmittelkonzentrationen im Suspensionsversuch, so kann eine beliebig lange Einwirkungszeit gewählt werden, um eine Abtötung der Testkeime zu erzielen. Bei der Desinfektion von Wäsche und kleineren Gegenständen liegen diese Verhältnisse praktisch vor. Bei der Desinfektion von Räumen, Ställen und größeren Gegenständen dagegen kommt es zum erwähnten schnellen Ablaufen und Verdunsten der Desinfektionsmittel, so daß hier nur innerhalb einer gewissen Zeit mit einem Desinfektionseffekt gerechnet werden kann, während längere "Einwirkungszeiten" an dem Ergebnis der tatsächlichen Einwirkung nichts mehr ändern, da die Desinfektionsstoffe nur in flüssiger Form in die Bakterienzelle aufgenommen werden (WALLHÄUSSER u. SCHMIDT, 1967). Nach dem Verdunsten der Desinfektionsflüssigkeit kann also nur noch dort ein Desinfektionsmittel wirken, wo es schon von der Bakterienzelle aufgenommen wurde.

6. Desinfektionsverfahren, Verdünnungsmittel und pH-Wert

Für den Desinfektionserfolg spielt die Art und Weise, wie das Desinfektionsmittel an das zu desinfizierende Material herangebracht wird, eine bedeutende Rolle. Jede Desinfektion erfordert eine vorherige gründliche Reinigung, ganz besonders, wenn das Desinfektionsgut stark verschmutzt ist, wie es bei einer Stalldesinfektion häufig der Fall sein wird. Trockene Auswurf- und Faecesschichten sind nach HEICKEN (1951) leichter zu desinfizieren als feuchte. Eine trockene Reinigung verbietet sich jedoch in allen Fällen, wo menschenpathogene Erreger vorhanden sind, wegen der Möglichkeit von Infektionen durch keimhaltigen Staub, insbesondere bei tuberkuloseverseuchten Ställen (MEYN u. SCHLIESSER, 1956). Andererseits sollte

bei feuchter Vorreinigung ein Abtrocknen der zu desinfizierenden Flächen abgewartet werden, um eine zusätzliche Verdünnung der Desinfektionsmittel zu vermeiden.

Das Desinfektionsgut kann auf verschiedene Weise mit dem chemischen Desinfektionsmittel in Kontakt gebracht werden. Die Skala der Anwendungsverfahren reicht vom Einlegen in die Desinfektionslösung oder Übergießen des Desinfektionsgutes und Verteilung mit Lappen, Bürsten oder Schrubbern bis zu modernen Sprühgeräten. Manche Desinfektionsmittel werden in Aerosol-, Dampf- oder Gasform angewendet. Hierbei zeigt sich aber der Nachteil, daß nicht alle Flächen des Desinfektionsgutes (je nach dessen Lagerung) gleichmäßig vom Desinfektionsmittel erreicht werden.

Bei der Stalldesinfektion muß wegen der Harnstoffzersetzung besonders mit alkalischem Milieu gerechnet werden, selbst bei vorheriger Reinigung, was für die Auswahl des Desinfektionsmittels und die zu empfehlende Konzentration von Bedeutung wäre.

Als Verdünnungsmittel für Grobdesinfektionsmittel wird im allgemeinen Wasser verwendet. Wasser höherer Härtegrade kann aber zu Reaktionen mit dem Desinfektionsmittel führen, die dessen Wirksamkeit negativ beeinflussen. Hiervon werden vor allem alkalische Mittel betroffen, während Substanzen mit ampholytischen Eigenschaften durch hartes Wasser unbeeinflußt bleiben (SCHÖNHERR, 1961).

Andere Lösungsmittel, Emulgatoren, Detergentienzusätze können die Wirkung der Desinfektionsmittel je nach Art der verwendeten Wirkstoffe und Zusätze steigern oder reduzieren (STUR, 1962; LODENKÄMPER und SPIEKER, 1953).

III. Zur Prüfung von Desinfektionsmitteln

Die Bestimmung des Desinfektionswertes eines Desinfektionsmittels ist ein bis heute nur unzureichend gelöstes Problem. Seit Robert Koch 1881 die Seidenfadenmethode als erste Keimträgermethode zur Desinfektionswertbestimmung eingeführt hat, sind unzählige Verfahren entwickelt worden. Prinzipiell kann man bei der bakteriologischen Laboratoriumsprüfung von Desinfektionsmitteln unterscheiden zwischen dem reinen Test, bei dem nur die Wirkung der eigentlichen Noxe geprüft wird und dem praktischen Desinfektionsversuch, bei dem die Wirkungsbedingungen der Praxis Berücksichtigung finden. Die Testkeime können dabei dem Desinfektionsmittel in der Suspensionsmethode oder der Keimträgermethode ausgesetzt werden (LEMBKE u. WASSERFALL, 1962). Dabei entspricht die Suspensionsmethode weitgehend dem reinen Mikrobizie-Test, während die Keimträgermethode mehr die Bedingungen der Praxis berücksichtigt. Beide Methoden liefern jedoch nur in beschränktem Maße Ergebnisse, die eine exakte Aussage über den Wert eines Desinfektionsmittels ermöglichen. TRAUTWEIN und NASSAL (1958) äußern sich dazu in einer Arbeit folgendermaßen: "Ganz allgemein kann - und dies nicht zu Unrecht - hinsichtlich der von uns bei den einzelnen Präparaten festgestellten Desinfektionsmittelwirkungen der Einwand erhoben werden, daß bei verschiedenen Präparaten von anderen Untersuchern abweichende, d. h. bessere oder schlechtere Versuchsergebnisse ermittelt wurden. Derartige Diskrepanzen sind seit langem bekannt, sie werfen ein bezeichnendes Licht auf die Problematik der Desinfektionsmittelprüfung, hauptsächlich infolge Uneinheitlichkeit der bisher geübten Technik".

Doch nicht allein die Vielzahl der verwendeten Untersuchungstechniken, sondern auch viele andere Faktoren beeinflussen das Ergebnis der Desinfektionsversuche im Labor. Schon die Durchführung der gleichen Methodik durch 2 verschiedene Personen unter sonst gleichen Bedingungen liefert, wie FRIEDEMANN (1967) nachweisen konnte, teilweise erheblich voneinander abweichende Ergebnisse. Auch SYKES (1958) berichtet im Zusammenhang mit der RIDEAL-WALKER-Methode über ähnliche Versuche mit ebenfalls wesentlich voneinander differierenden Ergebnissen. Wird nach verschiedenen oder unzureichend beschriebenen Methoden gearbeitet, so wird ein verlässlicher Vergleich des Desinfektionswertes zweier Desinfektionsmittel schon nahezu unmöglich.

Hinzu kommt noch, daß über die zur Prüfung von Desinfektionsmitteln zu verwendenden Testkeime keine einheitliche Meinung besteht. Für Bakterizidieprüfungen ist die Verwendung einiger pathogener oder apathogener Keime als Repräsentanten für eine bestimmte Keimgruppe seit langem üblich. Dagegen fordert BODEN (1963) eine Prüfung auf Wirksamkeit gegen alle in Frage kommenden Krankheitserreger. Ähnlich äußert sich HOLZ (1955): "Wenn bereits verschiedene Stämme eines Bakterientyps Resistenzunterschiede aufweisen, so kann man nicht aus dem Verhalten einer Bakterienart gegenüber einem Desinfektionsmittel auf das Verhalten einer anderen Art gegenüber dem gleichen Mittel schließen". Letztere Einstellung würde jedoch einerseits sehr umfangreiche und teure Prüfungen erfordern, die in vielen Fällen nicht ganz ungefährlich für die Versuchsansteller wären.

Weiter spielt die Anzüchtung der für die Prüfung verwendeten Testkeime - sie sollten möglichst hohe Resistenz gegenüber Desinfektionsmitteln besitzen - eine wesentliche Rolle.

Befinden sich Bakterien im Stadium der logarithmischen Vermehrung oder in der Absterbephase, so dürften sie durch Desinfektionsmittel leichter abzutöten sein als Bakterien z. B. in der stationären Phase. Werden sie in Bouillon angezüchtet, so kann ihre Phenolresistenz erheblich geringer sein als bei Anzüchtung auf festen Nährböden (ADAM et al., 1969). Es wäre daher günstig, wenn Stammhaltung und Anzüchtung auf standardisierten Fertignährböden durchgeführt werden könnten (FRIEDEMANN, 1967).

Auch muß ein Unterschied zwischen einer bakteriostatischen und bakteriziden Wirkung gemacht werden. Im allgemeinen wird der Tod eines Mikroorganismus angenommen, wenn dieser, in ein für seine Vermehrung günstiges Milieu gebracht, keine Vermehrung zeigt (PHILLIPS u. WARSHOWSKY, 1958). Bei der Verwendung von Desinfektionsmitteln tritt aber häufig die sogenannte Nachwirkung auf, bei der die Bakterien im Wachstum nur "gehemmt" werden, weil noch Reste des Desinfektionsmittels vorliegen (Bakteriostase). Wird das Desinfektionsmittel durch ein geeignetes "Enthemmungsmittel" inaktiviert, tritt wieder Vermehrung ein.

Zur Entfernung bzw. Inaktivierung der Desinfektionsmittel wurden bisher im wesentlichen 2 Methoden angewendet:

a) Einmal wird versucht, durch "Spülen" oder "Auswaschen" das Desinfektionsmittel zu entfernen. Dieser, bei bestimmter Anwendung der Suspensionsmethode akzeptable Weg wird umstritten, wenn man ihn auch für die Keimträgermethode anwenden will. HOLZ (1958) hält "das Abspülen des Desinfektionsmittels vom Keimträger durch Schwenken oder Einlegen in physiologische Kochsalzlösung" für "im Erfolg bei verschiedenen Präparaten verschieden und unkontrollierbar". Quantitative Untersuchungen seien bei dieser Methode nicht möglich, weil die einzelnen Desinfektionsmittel im Ausgangsmaterial und am Keimträger

unterschiedlich stark haften. Außerdem dürfte mit dem Auswaschen des Desinfektionsmittels gleichzeitig ein Teil der am Keimträger haftenden Bakterien mit abgeschwemmt werden, was selbst bei rein qualitativ ausgerichteten Methoden in Grenzfällen leicht zu noch größerer Streuung der Ergebnisse führen könnte.

b) Die Verwendung von Enthemmungsmitteln als Zusatz zum Nährboden der Nachkultur in einer Konzentration, die mit Sicherheit das Desinfektionsmittel inaktiviert und dabei keinen Einfluß auf die Bakterien ausübt, ist deshalb dem "Spülen" vorzuziehen. Einen anderen Weg geht BODEN (1963), der bewußt auf eine Unterbrechung der Desinfektionsmittelwirkung verzichtet und an deren Stelle lange Bebrütungszeiträume treten läßt. Hierdurch ist er in der Lage, zusätzlich die Stärke bakteriostatischer Wirkungen der Desinfektionsmittel festzustellen.

Einen weiteren Faktor, der den wahren Desinfektionserfolg verschleiern kann, bildet die Auswahl des Nährbodens für die Nachkultur. Schon ungleichmäßige Qualität der für die jeweils geprüften Testorganismen verwendeten Nährböden vermag unter sonst gleichen Voraussetzungen zu Schwankungen im Ergebnis zu führen. Werden Spezialnährböden verwendet, so muß bedacht werden, daß das Keimwachstum einer Art bei gleichen Ausgangskeimzahlen auf unterschiedlichen Nährböden erhebliche Unterschiede aufweisen kann. FRIEDEMANN (1967), der das Wachstum von Colibakterien gleichzeitig auf Endo-, Blut- und Nähragar prüfte, stellte unterschiedliche Keimzahlen auf den drei verwendeten Kulturplattenarten fest, wobei die Werte auf dem Selektivnährboden erheblich niedriger lagen.

Schließlich kann im Desinfektionsmittel selbst eine Fehlerquelle liegen, sei es, daß einzelne Chargen der gleichen Mittel in ihrer Zusammensetzung schwanken oder daß

das Desinfektionsmittel im Laufe der Zeit durch Temperatureinflüsse, Licht oder Adsorption an die Wände des Aufbewahrungsgefäßes verändert wurde. Das trifft nach eigenen Erfahrungen für Formalin, Phenol, organische Zinnverbindungen, Chlor- und Jodverbindungen zu.

Zur Prüfung gestellte Präparate müssen daher entsprechend aufbewahrt und die benötigten Verdünnungen aus den Stammlösungen stets unmittelbar vor Ausführung des Versuchs frisch angesetzt werden.

Seit jeher ist es üblich, neben einer Kontrollreihe bei Desinfektionsversuchen ein in seiner Wirkung gut bekanntes bzw. ein dem geprüften Präparat verwandtes Desinfektionsmittel mit zu prüfen, um einen Vergleichsmaßstab für die Bewertung des Präparates zu besitzen. TRAUTWEIN, NASSAL, KOPP und KARLE (1955) schreiben dazu: "Für wesentlich halten wir ferner den Vergleich mit einem bewährten, vielfach untersuchten und weithin anerkannten Desinfektionsmittel, wobei wir in erster Linie Formaldehyd verwendeten." Formaldehyd wird auch in vielen anderen Untersuchungen als Vergleichsmittel gewählt.

Das früher vielfach verwendete Phenol wird heute weniger benutzt. Der Vorschlag einer Reihe von Standard-Vergleichssubstanzen für die einzelnen Wirkstoffgruppen (DAVIS, 1960) besitzt den Vorteil, daß jedes Desinfektionsmittel mit einem in gleicher Weise wirkenden Standard verglichen werden kann, hat aber den Nachteil, daß eine Einstufung des Desinfektionswertes von Desinfektionsmitteln über die Wirkstoffgruppen hinaus nicht möglich ist. Damit würde sich die Beurteilung des praktischen Wertes eines Desinfektionsmittels noch komplizierter und schwieriger darstellen als das bei der Verwendung eines einzigen Standardmittels schon ist.

1. Die Suspensionsmethode

Das Prinzip der Suspensionsmethode besteht darin, daß eine bestimmte Methode einer Keimsuspension mit einer bestimmten, im Überschuß vorhandenen Menge der Desinfektionslösung gemischt wird und nach verschiedenen Einwirkungszeiten gleichgroße Proben der Mischung - evtl. nach einer geeigneten Behandlung zur Aufhebung der Desinfektionsmittelwirkung - in flüssige oder auf feste Nährböden übertragen werden. MEYN und SCHLIESSER (1955) betonen, daß in der Suspensionsmethode die reine bakterizide Wirkung unter Ausschaltung störender Einwirkungen geprüft werde und fordern, daß sie in standardisierter Form die Grundlage jedes Prüfungsverfahrens darstellen sollte, um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse verschiedener Untersuchungen zu erreichen. TRAUTWEIN, KOPP und KARLE (1955) erwähnen als besonderen Vorteil der Suspensionsmethode die Möglichkeit, das bakterizide Vermögen der einzelnen Präparate unter gleichen, quantitativen Bedingungen exakt ermitteln zu können.

Der Genauigkeitswert dieser Methode kann allerdings begrenzt sein, wenn z. B. die in die Nachkultur übertragenen Flüssigkeitsmengen so klein sind, daß zufällig keimfreie Proben übertragen werden, obwohl eine Anzahl überlebender Keime im Suspensions-Desinfektionsmittelgemisch vorhanden ist (OSTRANDER und GRIFFITH, 1964). Nach ROEMER (1953) ist aber die Wahrscheinlichkeit, daß ein Keim der höchsten Resistenzstufe Gelegenheit zur Weiterentwicklung findet, umso größer, je größer die Anzahl der in die Nachkultur übertragenen Bakterien ist.

SYKES (1958) weist darauf hin, daß selbst bei Verwendung einer genormten Öse zur Beimpfung der Nachkultur je nach dem Winkel, in dem die Öse aus der Flüssigkeit herausgezogen wird, der Geschwindigkeit, mit der dies geschieht und

der Oberflächenspannung der Flüssigkeit unterschiedliche Flüssigkeitsmengen übertragen werden.

Im Gegensatz zur Keimträgermethode befindet sich der Testkeim im Suspensionsversuch in einer Lage, in der er von allen Seiten vom Desinfektionsmittel angegriffen werden kann (WEINHOLD u. KÖHLER, 1972). Diese Tatsache muß berücksichtigt werden, wenn aus den Ergebnissen von Suspensionsversuchen Schlüsse auf die praktische Eignung von Desinfektionsmitteln gezogen werden sollen.

Je nachdem, ob als Ziel der Untersuchung nach der Suspensionsmethode eine nur qualitative (Endwertbestimmung) oder auch eine quantitative Aussage über den Desinfektionserfolg erwünscht war und je nach den Eigenarten der verschiedenen Testkeime, ist diese Methode in einer Vielzahl von Modifikationen angewendet worden.

Solche Abweichungen betreffen die Anzüchtung der Keime, die Herstellung der Keimsuspension, Art und Menge der Testkeime, Art des Desinfektionsmittels, Menge des in die Nachkultur übertragenen Keimmaterials und die Verfahren zur Ausschaltung der Desinfektionsmittelnachwirkung.

Durch ihre relativ leichte Standardisierbarkeit konnte die Suspensionsmethode eine überragende Bedeutung für die Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel erlangen.

Die wichtigsten Verfahren, die in den Richtlinien der DGHM aufgeführte Methode und die Rideal-Walker-Methode, sind so angelegt, daß nur die für die geprüften Konzentrationen kürzeste Abtötungszeit ermittelt wird.

Die Methode von RIDEAL und WALKER (1903) war die erste, die eine weitgehende Standardisierung des zu verwendeten Materials und der Arbeitstechnik vorschrieb. Bis heute dient sie in etwas modifizierter Form im englisch-amerikanischen Sprachraum der Bestimmung des sogenannten Phenolkoeffizienten. Dieser Koeffizient stellt den Quotienten dar, der aus der Konzentration des Desinfektionsmittels, die zu einer bestimmten Zeit Abtötung eines bestimmten *Salmonella typhi*-Stammes erzielt, und der Phenolkonzentration, die in der gleichen Zeit zur Abtötung führt, gebildet wird.

Im CHICK-MARTIN-Test (1908) wurde versucht, diese Methode zu verbessern, indem man die Einwirkungszeit von 10 auf 30 Min. erhöhte und die Desinfektionsmittellösungen mit 3 % sterilisierten menschlichen Faeces ansetzte. Weiterhin wurde ein anderer Teststamm von *Salmonella typhi* verwendet und die Subkulturen doppelt in Pepton-Fleisch-Extrakt-Glukose-Medium angelegt. Diese Methode wurde in den folgenden Jahren wieder mehrfach modifiziert, bis 1934 die BRITISH STANDARDS INSTITUTION eine Standardmethode veröffentlichte, die in geringer Abwandlung noch heute Gültigkeit zur Bestimmung des Phenolkoeffizienten im britischen Raum besitzt (SYKES, 1958).

In den USA wurden ebenfalls verschiedene Modifikationen des Rideal-Walker-Testes entwickelt, von denen die AOAC "Phenol Coefficient Method" offiziellen Charakter besitzt. Hierbei werden im Gegensatz zur ursprünglichen Methode auch *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* als Testkeime verwendet. Die aus Untersuchungen und Erfahrungen gewonnene Erkenntnis, daß eine verlässliche Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel für die Praxis allein durch Vergleich der Phenolkoeffizienten nicht möglich ist, hat dessen Bedeutung in den letzten Jahren aber

mehr und mehr in den Hintergrund treten lassen. Dafür wurden zusätzlich weitere Prüfungsmethoden vorgeschrieben, die den Verwendungszweck der Desinfektionsmittel stärker berücksichtigen sollen. Solche Methoden sind z. B. die AOAC "Use Dilution Method", bei der die gleichen Testkeime im Keimträgerversuch (Zylinder aus rostfreiem Stahl) geprüft werden oder eine Methode zur Prüfung von Desinfektionssprays (1 x 1 inch große Deckgläschen als Keimträger). Zur Prüfung von Desinfektionsmitteln, die zur Wasserdesinfektion verwendet werden sollen, dient der AOAC "Available Chlorine Germicidal Equivalent Concentration Test", bei dem die Wirksamkeit des getesteten Desinfektionsmittels in ppm freien Chlors einer bestimmten Natriumhypochloritlösung angegeben wird (LAWRENCE u. BLOCK, 1968; REDDISH, 1954).

Fast alle diese Methoden liefern jedoch Ergebnisse, welche die Verhältnisse der Desinfektionspraxis (rauhe und saugfähige Materialien, Schmutz und organische Verunreinigungen) nicht genügend berücksichtigen. Ihre Aussagen über den praktischen Desinfektionswert der geprüften Desinfektionsmittel bleiben daher häufig sehr fragwürdig. Trotzdem ist der Wert der Suspensionsmethode als Teil einer umfassenden Prüfung zur Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln unbestritten und sie bildet auch einen wesentlichen Bestandteil im Rahmen der DGHM-Richtlinien.

2. Die Keimträgermethode

Als Keimträger finden die verschiedensten Materialien Verwendung. STELLMACHER und SCHWEBS (1970) benutzten rohe Holzbrettchen, YARNYKK und TSOI (1970) dungbeschichtetes Holz, STELLMACHER (1967) gekalkte und ungekalkte Holzbrettchen aus altem Stallmaterial, Ziegelsteine und Putzstückchen, HOLZ (1955) Glas, Papier, Agar und Gips,

HEICKEN (1949) lackiertes Holz, Wollstoff, Leder, Drell und Gummistoff, GREUEL (1963) Kunststoff, Holz, Metall, Pappe, THIEL (1960) Sand, Hobelspäne, Kreide, Fliesen, Stahl, Sägespäne, MOUSSA (1971) Beton, Aluminium, Holz, Eternit, ROGERS, MAHER und KAPLAN (1961) Asphalt, Kautschuk, Keramik, OSTRANDER und GRIFFITH (1964) Pflastersteine usw.

Nach der Art der Rückgewinnung der Testkeime in der Nachkultur (auf festen oder flüssigen Nährböden) oder im Tierversuch lassen sich entweder qualitative oder qualitative und quantitative Aussagen über den Desinfektionserfolg erzielen.

Qualitative Methoden (Feststellung der Abtötung):

- a) Einlegen der Keimträger in Nährlösung (Bouillonverfahren)
(Batistverfahren nach den Richtlinien der DGHM; AOAC Use Dilution Method; OSTRANDER und GRIFFITH, 1964; HOFFMANN, 1955)
- b) Überimpfen infizierten Keimträgermaterials auf die Chorioallantoismembran von embryonierten Hühnereiern bei Prüfung auf Viruzidie
(GREUEL, 1963; HOLZ, 1958; STELLMACHER u. SCHWEBS, 1970; WEINHOLD und KÖHLER, 1972).
- c) Impfen, Verfüttern oder Implantieren an Versuchstiere
(TRAUTWEIN und NASSAL, 1958)

Qualitative und quantitative Methoden (Abtötung und/oder Feststellung der Keimreduzierung):

- a) Abklatschmethoden
(TEN CATE, 1965; HALL u. HARTNETT, 1964; KANZ, 1966; KLEIN u. WERNER, 1969; SINELL u. LEVETZOW, 1964)

- b) Tupfermethoden
(HEICKEN, 1949; DGHM-Richtlinien zur Flächendesinfektion)
- c) Abkratzverfahren
(SCHELS, 1958; THIEL, 1960)
- d) Abspülen
(ROGERS, MAHER u. KAPLAN, 1961)
- e) Zerkleinerung der Keimträger im Mixer
(HOLZ, 1955 u. 1958; BREIJER, JULIUS u. BOS, 1960),
oder im Mörser (Thiel, 1960).

Abspül-, Abkratz- und Tupferverfahren haften viele Möglichkeiten der Beeinflussung durch schwer kontrollierbare Faktoren an, wodurch die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse schwierig wird und quantitative Angaben wenig genau und aussagekräftig sind. Dagegen können mit den Abklatschmethoden recht gute und relativ konstante Werte über die Zahl und Art der überlebenden Keime auf den Testflächen erzielt werden. Hierbei werden aber die in das Material eingedrungenen Keime nicht erfaßt, so daß je nach Porosität des Testmaterials mehr oder weniger große Zahlen überlebender Keime unberücksichtigt bleiben (MOUSSA, 1971).

Der mit dieser Methode überprüfte Desinfektionserfolg wird daher scheinbar besser sein als der, der durch Zerkleinerung der Keimträger (HOLZ, 1955 u. 1958; BREIJER, JULIUS u. BOS, 1960; THIEL, 1960) und anschließende Bebrütung auf festen (oder in flüssigen) Nährböden festgestellt wurde.

Letztere Methode erfasst alle an und im Keimträger haftenden Keime. Nachteil der HOLZ'schen Methode ist ihre relativ komplizierte Technik und die Tatsache, daß praktisch nur im Mixer leicht homogenisierbare Keimträger Verwendung finden können.

Die Übertragung der ganzen Keimträger nach der Desinfektion in einen flüssigen Anreicherungsnährboden besitzt den Vorteil der Einfachheit und der Erfassung aller vermehrungsfähigen Testorganismen. Es besteht aber die Gefahr der Übertragung größerer bakteriostatisch wirksamer Desinfektionsmittelreste in die Nachkultur, die durch entsprechende Enthemmungsmittel aufgehoben werden muß. Bei diesen Methoden wird außerdem auch der letzte noch vermehrungsfähige Keim Wachstum im Nährmedium hervorrufen (Endpunktmethode), wodurch eine quantitative Aussage über die Keimreduzierung nicht möglich ist.

Tierversuche zur Ermittlung der keimtötenden Wirkung von Desinfektionsmitteln können nur mit virulenten Keimen durchgeführt werden und dürften außerdem der teuerste und gleichzeitig unsicherste Weg sein, da ein konstantes Tiermaterial praktisch nicht zu erhalten ist.

Für alle Verfahren gilt gleichermaßen, daß je nach Methodik und Versuchsbedingungen die unter B II und B III genannten Einflüsse in verschiedenem Ausmaße wirksam werden. Auch bei gleichen Verfahren können somit die Prüfungsergebnisse teilweise größere Abweichungen voneinander zeigen, ja sogar widersprüchlich sein.

Grundsätzlich ergeben sich daraus 2 Forderungen:

1. Nach einheitlichen Prüfungsmethoden zu arbeiten,
2. mehrere Methoden nebeneinander zu verwenden.

Die objektive Beurteilung eines geprüften Desinfektionsmittels in Hinsicht auf den Verwendungszweck ist eine der schwierigsten Aufgaben für den Gutachter, sofern nicht allgemein anerkannte Grenznormen festgelegt sind. Einerseits müssen die Anforderungen an das Desinfektionsmittel im Test hoch genug gestellt sein, um bei den Angaben von

Gebrauchskonzentrationen genügend Sicherheitsspielraum zu besitzen (z. B. Prüfung unter Eiweiß- und Kotbelastung). Andererseits müssen die Prüfungsverfahren so beschaffen sein, daß ihre Durchführung nicht an der Kostenfrage scheitert.

C. Eigene Untersuchungen

1. Vorversuche zur Prüfung einer Keimträgermethode

1. Material

1.1. Testkeime

Escherichia coli, Serotyp O 101, aus der Stammsammlung des Instituts. Die Resistenz des Stammes gegen 1 % Phenol, geprüft nach den Richtlinien der DGHM im Suspensionsversuch, betrug 30 Min.

Proteus vulgaris (Stamm 1619/71), frisch isoliert aus einer Diagnostikeinsendung. Die Phenolresistenzbestimmung ergab eine Resistenz von 5 Min. gegenüber 1 %igem Phenol.

Staphylococcus aureus (K 364) aus der Stammsammlung des Instituts für Bakteriologie und Immunitätsforschung. Die Phenolresistenzbestimmung gegen 1 %iges Phenol nach den Richtlinien der DGHM ergab eine Resistenz von 60 Min.

Alle Keime wurden während der Dauer der Versuche auf Blutagar gezüchtet.

1.2. Nährböden und Enthemmungsmittel

- a) Gewöhnliche Bouillon folgender Zusammensetzung:
- 10 % Fleischpepton (Merck, Nr. 7211)
 - 1 % Liebig's Fleischextrakt (Comp. Liebig, Antwerpen)
 - 0,3 % NaCl
 - 0,2 % sekundäres Natriumphosphat (Merck, Nr. 6580).

Die in dest. Wasser gelösten Substanzen werden im Dampftopf gekocht. Die heiße Bouillon wird durch ein Papierfilter gegeben und in Reagenzröhrchen in Portionen zu je 10 ml abgefüllt. Sterilisation 20 Min. im Autoklaven.

- b) Tween-Lecithin-Bouillon entsprechend den Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel der DGHM:

aa) Herstellung der Tween-Lecithin-Emulsion:

In einem etwa 300 ml fassenden Mörser werden 3 g Lecithin (Merck, Nr. 5331) unter tropfenweiser Zugabe von 30 g Tween 80 (Serva, Nr. 37475) so lange mit dem Pistill verrieben, bis eine schwach gelb gefärbte, milchig aussehende Emulsion entstanden ist. Die Homogenisierung des Lecithins im Tween gelingt leichter, wenn beide Stoffe vorher im Brutschrank bei 56°C über Nacht aufbewahrt werden.

bb) Herstellung der Tween-Lecithin-Bouillon (nach den DGHM-Richtlinien):

"Zu der im Mörser befindlichen Tween-Lecithin-Emulsion werden aus einem Kolben, der 1000 ml heiße Nährbouillon vom pH 7,4 - 7,6 enthält, etwa 200 ml in kleinen Anteilen unter stetem Reiben des Gemisches mit dem Pistill hinzugegeben. Die im Mörser mit heißer Nährbouillon verdünnte Tween-Lecithin-Emulsion wird dann in den Kolben mit dem Rest heißer Nährbouillon gegeben und durch Schütteln des Kolbens homogen verteilt. Danach wird der Nährboden im Dampftopf kurz erhitzt und noch heiß durch ein Papierfilter filtriert. Die mit dem Nährmedium in abgemessenen Portionen beschickten Kulturgefäße werden in Autoklaven mit gespanntem Wasserdampf von 1 atü (120°C) je nach Größe der Gefäße 15 - 30 Min. sterilisiert. Der pH-Wert sinkt dabei geringfügig, um etwa 0,2 Einheiten, ab. Im Verlauf der Sterilisation setzt sich am Boden der Kulturgefäße das Tween-Lecithin-Gemisch in Form einer zähen, braun gefärbten, durchsichtigen Masse ab, die durch kräftiges Schütteln des noch heißen Nährmediums wieder in Lösung zu bringen ist.

Dann fällt das Tween-Lecithin-Gemisch auch nach längerem Stehen bei Zimmer- oder Brutschranktemperatur

nicht mehr aus. Im erkalteten Nährboden kann das während der Sterilisation ausgeschiedene Tween-Lecithin-Gemisch durch Schütteln nicht mehr in Lösung gebracht werden. In solchen Fällen ist der Nährboden im Dampftopf auf 100°C zu erwärmen und der Bodensatz durch Schütteln der möglichst heißen Kulturgefäße wieder in Lösung zu bringen."

c) Gewöhnliche Bouillon mit Zusatz von 2 % Tween 80

Der heißen Bouillon wird die entsprechende Menge Tween 80 zugesetzt und bis zu vollständiger homogener Verteilung geschüttelt. Bei der Sterilisation fällt der Tween 80-Zusatz wieder aus. Er läßt sich wieder lösen, wie bei der Tween-Lecithin-Bouillon beschrieben.

Für die Versuche wurden alle flüssigen Nährböden in Mengen zu je 10 ml in Röhrchen abgefüllt.

d) Waschflüssigkeiten

Ster. Leitungswasser (dH 8)

"	"	mit 1 % Tween 80-Zusatz
"	"	mit Zusatz von 0,5 ml frisch zubereiteter 1 bzw. 2 %iger Na_2SO_3 Lösung
"	"	mit Zusatz von 3 % Tween 80 und 0,3 % Lecithin

Die Waschflüssigkeiten waren in der Menge von 10 ml in Röhrchen abgefüllt.

e) Feste Nährböden

Blutagar für die Vorkultur und zur Wachstumskontrolle bei Staph. aureus. Hierzu wurde ein 2 %iger Agar Agar (pulverisiert, Oxoid Nr. 1) und 10 % defibriniertes Hammelblut verwendet.

Wasserblau-Metachromgelb-Lactose-Agar nach Gassner (Fertignährboden, Merck) zur Wachstumskontrolle von E. coli und Proteus vulgaris.

1.3. Desinfektionsmittel

1.3.1. Reines Phenol: Die Lösungen wurden hergestellt mit kristallinem Phenol und sterilisiertem dest. Wasser.

1.3.2. Formalin: Als Stammlösung wurde eine 37 % Formaldehyd enthaltende Formalinlösung (Merck, Nr. 4002) benutzt. Bei der Herstellung der Verdünnungen für die folgenden Versuche wurde die Stammlösung = 100 % gesetzt. Eine 3 %ige Formalinlösung enthält demnach 1,11 % gelöstes Formaldehyd.

1.3.3. Bradophen: Hersteller: CIBA, Basel

Wirkstoffe: Quartäre Ammoniumbasen

(Dodecyl-Di-(β -oxyäthyl)benzyl-ammoniumchlorid)

Reinsubstanz in Pulverform.

1.3.4. Nobisept: Hersteller: VEMIE Veterinär Chemie GmbH.
Kempen/Niederrhein

Wirkstoffe: 10 %ige Lösung quartärer Ammoniumverbindungen mit Langzeitwirkung.

1.3.5. Lysoformin: Hersteller: Lysoform Dr. Hans Rosemann,
Berlin 46 u. Weilburg/Lahn

Wirkstoffe: Aktive Aldehydgruppen und waschaktive Substanzen.

1.3.6. Stallosyl C: Hersteller: Woellner-Werke Ludwigsh./Rh.

Wirkstoffe: 20 % NaOH und KOH, Natriumhypochlorit mit einem aktiven Chloranteil von 1,5 - 1,7 % und Tenside.

1.3.7. Chloramin 80: Hersteller: Chem. Fabrik von Heyden AG
8 München

Wirkstoffe: Chloramin 80 (früher Roh-Chloramin) enthält 80 % Para-Toluolsulfon-chloramid-natrium. Der aktive Chlorgehalt beträgt ca. 20 % (als Granulat und Pulver im Handel).

1.3.8. Lorasol-V: Hersteller: CIBA Basel

Wirkstoffe: 1,75 % Jod kombiniert mit waschaktiven Stoffen
und 16 % Phosphorsäure (Konzentratlösung).

1.3.9. VL-Incidin 02: Hersteller: Henkel & Cie. GmbH
Düsseldorf

Wirkstoffe: Aldehyde und Organozinnverbindungen (flüssi-
ges Desinfektionsmittelkonzentrat).

1.3.10. Lomasept: Hersteller: TAD Pharmazeutisches Werk
GmbH Cuxhaven

Wirkstoffe: Auf Flasche und Prospekt nicht angegeben.

1.3.11. Lysovet: Hersteller: Schülke u. Mayr GmbH., Hamburg

Wirkstoffe: Phenole: p-Chlor-benzylphenol, p-Chlor-m-kre-
sol, o-Phenyl-phenol, Emulgatoren, waschaktive
Substanzen, Korrosionsinhibitoren usw.

1.3.12. Izal-Germicide: Hersteller: Izal Ltd. Thorncliffe
Sheffield, England

Import und Vertrieb in Deutschland:
Paul Ludwig Albers, Saerbeck/Westf.

Wirkstoffe: Phenolderivate (hochkonzentriert und emulgiert).

1.3.13. Tego 51: Hersteller: Th. Goldschmidt AG., Essen

Wirkstoffe: Amphotenside (Konzentratlösung).

Die Gebrauchsverdünnungen der genannten Desinfektionsmittel
mit Ausnahme von Izal wurden mit sterilem dest. Wasser von
Zimmertemperatur hergestellt. Izal wurde mit auf 56°C er-
wärmtem Aqua dest. verdünnt.

1.4. Keimträger

Für die Versuche unter C.I.2.2. wurden als Keimträger folgende Materialien verwendet:

Ziegel (Größe: 3 - 4 x 10 x 10 mm). Sie wurden aus Dachpfannen und Blumentopfscherben auf die entsprechende Größe zurechtgeschliffen.

Wandverputz (Größe: 3 - 4 x 10 x 10 mm). Die Keimträger wurden aus alten Zementputzstückchen hergestellt.

Plastik (Größe: 1,5 x 10 x 10 mm) hergestellt aus einem Plastikeimer.

Fichtenholz (Holz) (Größe: 3 x 10 x 10 mm) geschnitten aus rohen Leisten mit zwei senkrecht zur Faser liegenden seitlichen Schnittflächen.

Behandlung der Keimträger

Die Keimträger wurden vor den Versuchen in Flaschen mit dest. Wasser durch 3-maliges, etwa 30-minütiges Einstellen in den Dampftopf sterilisiert. Sie kamen stets noch leicht feucht zur Verwendung. Nach Abschluß der jeweiligen Versuche wurden die Keimträger in heißem Leitungswasser ausgewaschen und nach oben beschriebener Weiterbehandlung für die nächsten Versuche verwendet.

Für die Versuche unter C.I.2.3. wurden als Keimträger Putzstückchen (4 x 10 x 10 mm) und Aluminiumplättchen (0,8 x 10 x 10 mm) verwendet. Die Putzkeimträger wurden diesmal in einer Gitterschablone aus einem Gemisch von 1 Teil Zement auf 3 Teile feinen Sand hergestellt, eine Woche abgelagert, in oben genannter Weise sterilisiert und noch eben feucht für die Versuche verwendet. Jeder Keimträger wurde nur einmal benutzt.

2. Methoden

2.1. Keimsuspension und Keimzahlbestimmung

Von 16-stündigen Blutagarkulturen der Testkeime wurden Abschwemmungen mit 5 ml phys. NaCl-Lösung hergestellt und davon 1 ml mit ca. 10 - 20 ml phys. NaCl-Lösung verdünnt, bis die Trübung der eines Vergleichsröhrchens mit einer Bariumsulfatsuspension (1 mg/ml Aqua dest.) entsprach. Die entsprechende Verdünnung der Aufschwemmung mit gewöhnlicher Nährbouillon wurde als Keimsuspension für die Kontamination der Keimträger verwendet.

Von der mit phys. NaCl-Lösung angesetzten Ausgangsverdünnung wurde zur genauen Keimzahlbestimmung eine 10-fache Verdünnungsreihe bis zu einer Verdünnung von 10^{-8} ebenfalls mit phys. NaCl-Lösung angelegt. Von den Verdünnungen 10^{-5} - 10^{-8} wurden je 0,1 ml auf 2 Blutagarplatten ausgespatelt und 24 Std. bei 37°C bebrütet. Danach wurden die Kolonien gezählt und die Durchschnittskeimzahlen pro ml Ausgangsverdünnung errechnet.

2.2. Versuche mit 4 Keimträgern, 3 Teststämmen und 3 Desinfektionsmitteln

2.2.1. Versuchsreihe 1:

Ziele dieser Versuche war, diejenigen Desinfektionsmittelkonzentrationen zu bestimmen, die unter den gegebenen Versuchsbedingungen eine Abtötung der Testkeime in 1 bzw. 2 Std. erzielen. Gleichzeitig sollte die Brauchbarkeit dieser Methode erprobt werden.

Versuchsablauf:

Die in oben dargestellter Weise hergestellte Keimsuspension wurde in Mengen zu je etwa 35 - 40 ml in sterile Glasschälchen gegeben und die Keimträger für 1 Std. darin

Bei Formalin: Waschen der Keimträger in 10,5 ml Na_2SO_3 -haltigem sterilem Leitungswasser und anschließend in 10 ml sterilisiertem Leitungswasser.

Bei Phenol und Lysovet: 2-maliges Waschen der Keimträger in ster. Leitungswasser, 2-maliges Waschen in ster. 1 % Tween 80-Lösung und Verwendung von 2 %iger Tween 80-Bouillon zur Nachkultur.

Das Auswaschen wurde durch mehrmaliges Schütteln in entsprechend beschickten Reagenzröhrchen vorgenommen.

Die auf je 10 ml bemessenen Waschflüssigkeiten wurden für nur jeweils einen Keimträger verwendet. Nach dem Waschvorgang wurden die Keimträger in die entsprechende Bouillon übertragen. Vor der Übertragung des nächsten Keimträgers wurde die Pinzette stets abgeflammt. Bei einem Teil der Versuche wurde nach dem Waschen und vor der Übertragung in Bouillon ein Abklatsch der beiden großen Flächen der Keimträger auf Gassner- (bei *E. coli* und *Prot. vulgaris*) oder auf Blutagar (bei *Staph. aureus*) vorgenommen.

Bouillon und feste Nährböden wurden 48 Std. bei 37°C bebrütet und anschließend abgelesen. Um festzustellen, ob es sich bei getrübten Röhrchen um Wachstum des Testkeimes oder Verunreinigungen handelte, wurden von allen bewachsenen Röhrchen Ausstriche auf Blut- oder Gassneragar angelegt und nach 24 Std. Bebrütung bei 37°C beurteilt.

Um Wachstumshemmung durch in die Nachkultur übertragene Desinfektionsmittelreste auszuschließen, wurden sich-probenartig klar gebliebene Ansätze der mit den höchsten Desinfektionsmittelkonzentrationen behandelten Keimträger mit einer kleinen Öse des Testkeimes beimpft und nach 24 Std. Bebrütung auf Wachstum kontrolliert.

Bei allen Versuchen lief je Keimträgermaterial eine Kontrolle mit, in der statt des Desinfektionsmittels steriles, dest. Wasser verwendet wurde.

2.2.2. Versuchsreihe 2:

In dieser Versuchsreihe sollte festgestellt werden, in wie weit sich mit denselben Keimträgern bei Wiederholung der Versuche in gleicher Anordnung an verschiedenen Tagen übereinstimmende Ergebnisse erzielen lassen.

Hierzu wurden dieselben Keimträger, Teststämme und als Desinfektionsmittel Lysovet verwendet. Versuchsanordnung und Technik waren die gleichen wie bei 2.2.1. (Versuchsreihe 1). Die Versuche wurden 4 x mit Lysovetkonzentrationen von 1,5 %, 2 %, 2,5 %, 3 %, 4 %, 5 % und 2 x für die Keimträger Ziegel und Plastik in 0,5 %iger Abstufung von 0,5 % bis 3 % sowie für die Keimträger Putz und Holz in 1 %iger Abstufung von 3 - 8 % durchgeführt. Die Keimdichte lag bei diesen Versuchen mit einer Ausnahme ($3,3 \times 10^8/\text{ml}$) zwischen $1,4$ und $2,6 \times 10^7/\text{ml}$.

2.3. Versuche mit 2 Keimträgern, 3 Teststämmen und der Gebrauchskonzentration von 11 Desinfektionsmitteln unter Serumbelastung

Teststämme wie bei 2.2.1. bzw. 2.2.2.

Die Keimsuspension wurde anstelle von Bouillon mit 20 % sterilem inaktiviertem Rinderserum hergestellt. Es wurde darauf geachtet, daß die Raumtemperatur während der Versuche in den Grenzen von $20 \pm 2^\circ\text{C}$ lag.

Versuchsablauf:

Die Keimträger wurden 60 Min. in die Keimsuspension eingelegt (24 Stück/40 ml Suspension) und anschließend in sterilen Petrischälchen (Putz in vertikaler Stellung,

Aluminium horizontal) 1 Std. getrocknet. Zur Desinfektion (Kontaktzeit) wurde bei Putz 10 Min. in die Verdünnung eingelegt (24 Keimträger/ca. 40 ml), bei Aluminium 2 Min. Nach 1 und 2 Std. Einwirkungszeit bei Putz (Lagerung in vertikaler Stellung), nach 2 Min., 5 Min. und 10 Min. bei Aluminium (horizontale Lagerung) wurden die Keimträger nach Waschen mit dem jeweils entsprechenden Enthemmungsmittel bzw. sterilem Leitungswasser (je 10 ml) in Bouillon verbracht und 2 Tage bei 37°C bebrütet.

Die verwendeten Gebrauchskonzentrationen (nach Angaben auf Packungen, Prospekten oder von Lieferanten) und Enthemmungszusätze zu Bouillon bzw. Waschwasser sind aus folgender Aufstellung zu ersehen:

Präparat	Konz.	Waschflüssigkeiten	Nährboden
Formalin	3 %	Na ₂ SO ₃ 2% 0,5 ml ad. 10,5 ml ster.L Leitungsw.	10 ml gew. Bouillon
Stallosyl-C	10 %	Na ₂ SO ₃ 1% 0,5 ml ad. 10,5 ml ster.L Leitungsw.	"
Lysoformin	1 %	Na ₂ SO ₃ 2% 0,5 ml ad. 10,5 ml ster.L Leitungsw.	"
Chloramin 80	1 %	Na ₂ SO ₃ 1% 0,5 ml ad. 10,5 ml ster.L Leitungsw.	"
Lorasol-V	0,6%	"	"
Nobisept	2 %	2 x ster. Leitungsw.	3 % Tween 80 + 0,3 % Lecithin- Bouillon 10 ml
Bradophen	0,05%	"	"
VL-Incidin 02	2 %	"	"

Präparat	Konz.	Waschflüssigkeiten	Nährboden
Lomasept	5 %	2 x ster. Leitungsw. + 2 x Tween 80 1%	2 % Tween 80- Bouillon 10 ml
Lysovet	2 %	"	"
Izal	1 %	"	"
Tego 51	2 %	2 x 3 % Tween 80 + 0,3 % Lecithin	3 % Tween 80 + 0,3 % Lecithin- Bouillon 10 ml

Die Wachstumskontrolle und Prüfung auf Nachwirkung der Desinfektionsmittel in der Kultur erfolgte wie bei 2.2.1.

Um festzustellen, ob durch das Waschen das Desinfektionsergebnis u. U. durch zu starke Abschwemmung von Keimen verfälscht wird, wurden bei den Versuchen mit Putz von 4 Keimträgern der gleichen Einwirkungszeit Proben 1 und 2 gewaschen und Proben 3 und 4 ungewaschen überimpft, bei Aluminium wurde jeweils Probe 3 ungewaschen in die Bouillon gebracht. Bei allen Versuchen wurden von den verwendeten Nährböden, Waschlösungen, dem Serum und den Keimträgern Kontrollen auf Sterilität gemacht. Das Serum und die Putzkeimträger wurden zusätzlich auf eigene keimhemmende Eigenschaften geprüft. Eine solche wurde nicht festgestellt. Bei jedem Versuch liefen außerdem 3 Kontrollen mit nicht desinfizierten Keimträgern (siehe C I.2.2.1.) mit. Ein Versuch wurde nur gewertet, wenn alle Kontrollen erwartungsgemäß ausfielen. Auf eine Aufführung in den Tabellen wurde daher verzichtet.

Die Desinfektionsmittelverdünnungen wurden bis auf einen Versuch (Staph. aureus in Tab. 8: 5 Tage alt) am Abend vor dem Versuchstage hergestellt.

3. Ergebnisse der Vorversuche (C.I.)

3.1. Ergebnisse der Versuchsreihe 2.2.1.

In Tabelle 1 und 2 sind die Ergebnisse der 1. Versuchsreihe in Form der niedrigsten Abtötungskonzentrationen zusammengestellt. Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, daß nur mit Formalin durchweg Abtötung erreicht werden konnte, während mit Phenol und Lysovet nur bei den Keimträgern Ziegel und Plastik Abtötungsergebnisse erzielt wurden.

Die hierzu nötigen Konzentrationen liegen bei Phenol und Lysovet speziell für den Keimträger Ziegel erheblich über denen des Formalins. Während von Formalin schon häufig (vor allem bei Verwendung von *E. coli* und *Prot. vulgaris*) die niedrigste geprüfte Konzentration zur Abtötung ausreichte, führten bei Ziegelkeimträgern Phenolkonzentrationen von 3 % erst innerhalb von 2 Std. zur Abtötung. Die mit Lysovet erzielten Ergebnisse liegen eindeutig besser als die Phenolwerte.

Von den Keimträgermaterialien ließen sich Plastik gut, Ziegel mäßig und Putz und Holz sehr schlecht desinfizieren. Nach den Ergebnissen der Formalinreihe scheint *Staph. aureus* K 364 etwas schwerer abzutöten zu sein als *E. coli* und *Proteus*. Bei den porösen Materialien scheint ein Zeitfaktor vorhanden zu sein. Bei Plastikmaterial liegen die Werte für 1 und 2 Stunden bis auf eine Ausnahme bei der gleichen Konzentration, was darauf hindeutet, daß die Abtötung schnell, zumindest aber schon innerhalb der 1. Std. erzielt wird.

In Tabelle 2 sind vergleichend die Ergebnisse des Abklatschverfahrens und des Bouillonverfahrens zusammengestellt. Die Kontamination der Keimträger wurde mit Keimsuspensionen einer Keimdichte von ca. 10^5 /ml durchgeführt, um festzustellen, ob sich hierdurch ein günstigeres Desinfektions-

Tabelle 1: Abtötungskonzentrationen bei Verwendung verschiedener Keimträger (Keimzahl ca. 10^5 /ml)
(keine Abtötung -)

Einwirkungs- zeiten Testkeim		Ziegel		Putz		Plastik		Holz	
		1 h	2 h	1 h	2 h	1 h	2 h	1 h	2 h
Formalin	E. coli O 101	1,5%	1%	1,5%	1%	1%	1%	1%	1%
	Staph. aureus K364	2%	1,5%	2,5%	1,5%	2,5%	1,5%	1,5%	1,5%
	Proteus vulgaris	1%	1%	2%	1%	1%	1%	1,5%	1%
Phenol	E. coli O 101	-	3%	-	-	3%	3%	-	(3%)
	Staph. aureus K364	-	3%	-	-	1%	1%	-	-
	Proteus vulgaris	-	3%	-	-	1,5%	1,5%	-	-
Lysovet	E. coli O 101	2%	0,5%	-	3%	1,5%	1,5%	-	-
	Staph. aureus K364	(3%)	(3%)	-	-	1%	1%	-	-
	Proteus vulgaris	-	3%	-	-	0,5%	0,5%	-	-

Tabelle 2: Abtötungskonzentrationen bei verschiedenen Keim-trägern im Abklatsch- und Bouillonverfahren
(Keimzahl ca. 10^5 /ml) (keine Abtötung -)

Testkeim		Mater.	Ziegel		Putz		Plastik		Holz	
		Zeiten	1 h	2 h	1 h	2 h	1 h	2 h	1 h	2 h
Formalin	E. coli O 101	Abkl.	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%
		Bouil.	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%
	Staph. aureus K 364	Abkl.	-	1%	2%	1%	1%	1%	1%	1%
		Bouil.	2%	1%	1,5%	1%	1%	1%	1%	1%
	Prot. vulgaris	Abkl.	1%	1%	2%	1%	1%	1%	1%	1%
		Bouil.	1%	1%	1,5%	1%	1%	1%	1,5%	1%
Phenol	E. coli O 101	Abkl.	1%	1%	2%	1%	1%	1%	1%	1%
		Bouil.	1,5%	1,5%	3%	1%	1%	1%	1,5%	1,5%
	Staph. aureus K 364	Abkl.	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%
		Bouil.	1,5%	1,5%	2%	-	1%	2%	3%	2%
	Prot. vulgaris	Abkl.	-	1%	3%	-	2%	1,5%	-	1,5%
		Bouil.	-	3%	-	-	1,5%	1,5%	-	-
Lysovert	E. coli O 101	Abkl.	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%
		Bouil.	1,5%	1,5%	2%	2%	1,5%	1,5%	2%	1,5%
	Staph. aureus K 364	Abkl.	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%
		Bouil.	1,5%	1,5%	2%	1,5%	2,5%	1,5%	1,5%	1,5%
	Prot. vulgaris	Abkl.	-	1,5%	-	-	-	-	-	-
		Bouil.	-	-	-	-	2%	1,5%	-	-

ergebnis erzielen läßt. Die Befunde zeigen, daß dies der Fall ist. Außerdem wird deutlich, daß durch das Abklatschverfahren durchweg niedrigere Abtötungskonzentrationen ermittelt wurden als im Bouillonverfahren. Deshalb ließ sich auch bei den Keimträgern Putz und Holz größtenteils Abtötung erzielen.

3.2. Ergebnisse der Versuchsreihe 2.2.2.:

Die Tab. 3 - 6 zeigen die Ergebnisse der 2. Versuchsreihe, in der die gleichen Keimträger mit denselben Teststämmen und Lysovet ausführlicher, d. h. meistens in 6 verschiedenen Proben, geprüft wurden. Die Ergebnisse bestätigen im wesentlichen die schon bei der Besprechung der Tab. 1 gemachten Feststellungen. Allgemein, vor allen Dingen jedoch bei Testmaterial Ziegel, fällt eine weite Streuung der Ergebnisse auf. Vermutlich geht das auf das im einzelnen doch recht unterschiedliche Keimträgermaterial zurück. Andererseits sind die Konzentrationsabstufungen von 0,5 % für diese doch nur mäßig empfindliche Testmethode relativ gering gewählt, wodurch im Wirkungsgrenzbereich ohnehin mit einer gewissen Schwankung der Ergebnisse gerechnet werden muß. Auffallenderweise zeigte trotz der geringen Phenolresistenz im Suspensionsversuch von nur 5 Min. der Proteus-Stamm bei diesen Keimträgerversuchen eine höhere Resistenz gegenüber Lysovet als der Coli-Stamm, die sogar geringgradig höher lag als bei Staph. aureus. Worauf dies zurückzuführen war, vermochte ich nicht festzustellen. Der Umstand zeigt jedoch, wie gering die Aussagekraft der Phenolresistenz, selbst für Untersuchungen mit Phenolderivaten, ist.

Tabelle 5: Desinfektionsversuche mit Lysovet an *E. coli*,
Staph. aureus und *Proteus vulgaris* mit ⁸konta-
minierten Keimträgern (Keimzahl ca. 10⁸/ml)

Testmaterial: Plastik		Testpräparat: Lysovet								
		0,5%	1%	1,5%	2%	2,5%	3%	4%	5%	K
<i>Escherichia coli</i> O 101	1 Stunde	..	..	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	2 Stunden	..	..	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Staphylococcus aureus</i> K 364	1 Stunde	..	..	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	2 Stunden	..	..	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Proteus vulgaris</i>	1 Stunde	..	..	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	2 Stunden	..	..	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

3.3. Ergebnisse des Versuches I.2.3.:

Die Tab. 7 und 8 zeigen die Ergebnisse der Prüfung der Gebrauchskonzentrationen von 11 Handelspräparaten. Um Materialunterschiede der Keimträger weitgehend auszuschließen, waren alle Keimträger in gleicher Weise hergestellt worden und wurden nur für jeweils einen Test verwendet. Von jeder Einwirkungszeit wurden je 3 bzw. 4 Proben angelegt, um sichere Ergebnisse zu erhalten. Dabei wurden jeweils die Proben 1 und 2 nach Vorschrift gewaschen und 3 bzw. 4 ungewaschen in die Bouillon übertragen. Allgemein ist aus beiden Tabellen zu ersehen, daß der Staph.-Stamm wiederum am schwersten abzutöten war. In der ersten Versuchsanordnung mit Testmaterial Putz (Tab. 7) konnte innerhalb von 2 Std. von den Gebrauchskonzentrationen der Präparate Lorasol-V, Nobisept, Bradophen und Tego 51 keine Abtötung der 3 Testkeimarten erreicht werden. VL-Incidin 02 zeigte nur gegen Staphylokokken schwankende Ergebnisse. Alle anderen Präparate führten innerhalb der Versuchszeit überwiegend zur Abtötung der Keime.

In der zweiten Versuchsanordnung mit Aluminiumkeimträgern (Tab. 8) wurde mehr die Wirkungsgeschwindigkeit der einzelnen Präparate geprüft. Dabei stellte sich heraus, daß Formalin und die beiden formalinhaltigen Präparate Lysoformin vet. und VL-Incidin 02 innerhalb von 10 Min. Einwirkungszeit keine abtötende Wirkung erreichten. Bradophen konnte Proteuskeime in 10 Min. nicht abtöten, bei Staphylococcus aureus und E. coli aber noch befriedigende Ergebnisse erzielen. In dem Versuch mit Staph. aureus und Aluminiumkeimträgern wurden aus Versehen 5 Tage alte Verdünnungen der Desinfektionsmittel verwendet. Das Ergebnis scheint darauf hinzuweisen, daß bei Lorasol-V eindeutig

Tabelle 7: Desinfektionsversuche mit verschiedenen Handelspräparaten (Gebrauchskonzentrationen) im Keimträgerversuch (Bouillonverfahren)

Material: Putz	Ge- brauchs- konz.	Pro- be Nr.	E.coli 0101		St.aur.K364		Pr.vulgaris	
Handelsbezeich- nung			Kz:1x10 ⁹ /ml		Kz:5x10 ⁸ /ml		Kz:2x10 ⁸ /ml	
			1 h	2 h	1 h	2 h	1 h	2 h
Formalin	3%	1 2 3 4	- - - -	- - - -	- - + +	- - - +	- - - -	
Stallosyl C	10%	1 2 3 4	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	- - - -	
Lysoformin vet.	1%	1 2 3 4	- - + +	- + - -	- - - -	- - - -	- - - -	
Chloramin 80	1%	1 2 3 4	- - - -	- - - -	- + + +	- - - -	- - - -	
Lorasol	0,6%	1 2 3 4	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	
Nobisept	2%	1 2 3 4	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + -	
Bradophen	0,05%	1 2 3 4	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	
VL-Incidin 02	2%	1 2 3 4	- - - -	- - - -	+ - + +	- + - +	- - - -	
Lomasept	5%	1 2 3 4	- - + -	- - - +	- - + -	- - - -	- - - -	
Izal	1%	1 2 3 4	- + - -	- - - -	+ - + -	- + - -	- - - -	
Tego 51	2%	1 2 3 4	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	+ + + +	
Lysovet	2%	1 2 3 4	- - - -	- - - -	+ + + +	- - - -	- - - -	

ein starker Wirksamkeitsverlust eingetreten war (siehe auch unter C.I.1.3.8.). Bei den anderen Präparaten ist ein Nachlassen der Wirkung nicht eindeutig erkennbar. Alle übrigen Präparate zeigten innerhalb von 10 Min. Abtötung der Testkeime.

Hinsichtlich eines Einflusses des Waschvorganges auf den Ausgang der Wirksamkeitsprüfungen ergeben sich keine Anhaltspunkte. Es kann somit ausgeschlossen werden, daß Abtötungseffekte fälschlicherweise durch ein vorzeitiges Abwaschen der Keime vom Keimträger zustande kamen.

II. Vergleichende Untersuchungen der DGHM-Methode zur Spraydesinfektion und eines Abdruckverfahrens

Um weitere Anhaltspunkte über die Eignung verschiedener Methoden zur Prüfung von Flächendesinfektionsmitteln zu erhalten, wurde das DGHM-Standardverfahren zur Spray-Desinfektion mit einem von den Lysoform-Werken empfohlenen neuen Abdruckverfahren verglichen.

1. Material

1.1. Testkeim

Staphylococcus aureus CB, bezogen von Herrn Dr. Rödger (Lysoform-Werke, Berlin). Der Keim wurde im Institut für Hygiene, Leuven/Belgien, isoliert.

Im Phenolresistenztest gegen 1 %iges Phenol ergab sich eine Zeit von 30 Min.

1.2. Versuchspräparate

Es wurden 4 nicht handelsübliche Desinfektionsmittel auf unterschiedlicher Wirkstoffbasis benutzt, die eigens für Vergleichsuntersuchungen zur Verfügung gestellt worden waren.

Präp. 1 enthielt als Wirkstoff Formalin und anionaktive
Waschrohstoffe,

Präp. 2 Aldehyd und quartäre Ammoniumverbindungen,

Präp. 3 quartäre Ammoniumverbindungen und

Präp. 4 Phenolderivate (hochkonzentriert, ca. 25 %).

Die Desinfektionsmittel wurden in undurchsichtigen Plastikflaschen bei Zimmertemperatur in einem verschlossenen Schrank lichtgeschützt aufbewahrt.

Formalin DAB 7 wurde als Vergleichsmittel in 3 %iger Lösung stets mitgeprüft.

Alle Desinfektionsmittelverdünnungen wurden mit Wasser der dH 12 bei Zimmertemperatur hergestellt und die 1, 2, 3 und 5 %igen Konzentrationen jeweils am Versuchstage frisch angesetzt.

1.3. Nährböden und Enthemmungsmittel

1.3.1. Für das DGHM-Verfahren zur Spray-Desinfektion:

Normale Blutagarplatten; zur Enthemmung wurde für Präp. 1 0,1 %ige Histidin-Bouillon (Histidin, Merck, Nr. 4351), für Präp. 2 0,1 % Histidin, 3 % Tween 80 und 0,3 % Lecithin, für Präp. 4 2 % Tween 80 enthaltende gewöhnliche Bouillon benutzt.

1.3.2. Für das Abdruckverfahren:

Normale Blutagarplatten, die zur Enthemmung einen Zusatz von 5 % inaktiviertem Rinder Serum, 3 % Tween 80 und 0,3 %

Lecithin bekamen. Diese Zusätze wurden dabei vorab in der für die Blutagarherstellung üblichen Bouillon gelöst. Die nach 2 - 3 Tagen auftretende Hämolyse störte das Wachstum und die Auszählung der Kolonien nicht.

1.4. Keimträger

1.4.1. Für das DGHM-Verfahren zur Spray-Desinfektion:

Als Keimträger wurden gemäß den Richtlinien 6 x 6 cm große, mit farblosem Lack gestrichene, abgelagerte Sperrholzbrettchen verwendet. Die Lackierung lag Monate zurück. Die Brettchen wurden, entsprechend der Vorschrift, an den Vortagen der Versuche mit Leitungswasser abgespült und in einem staubfreien Raum gelagert, getrocknet und über Nacht UV-Licht ausgesetzt.

1.4.2. Für das Abdruckverfahren:

Als Keimträger wurden 3 x 3 cm große, rohe, 3-schichtige Sperrholzbrettchen von 4 mm Dicke, nicht wasserfester Verleimung und Buchenholzoberfläche verwendet. Buchenholz ist nach HEICKEN (1949) sehr schwer zu desinfizieren. Die nicht wasserfeste Verleimung wurde gewählt, da der zur wasserfesten Verleimung verwendete Kunststoffkleber das Holz stärker durchdringen und damit dessen Saugfähigkeit beeinträchtigen soll. Die Keimträger wurden in einer geschlossenen Blechdose 2 Std. bei 150°C im Trockenschrank sterilisiert.

2. Methoden

2.1. Keimsuspension und Keimzahlbestimmung

siehe unter C.I.2.1.

2.2. DGHM-Verfahren zur Spray-Desinfektion:

Das Verfahren erfolgte gemäß Abschnitt C.III.3.b)aa) der Richtlinien der DGHM (Prüfung von Desinfektionsmitteln bei Verwendung der Spray-Desinfektion bei bakteriellen Darmkrankheiten (einschl. Tbc) und bei Staphylokokken-hospitalismus).

Abweichend von diesen Vorschriften wurde nur ein Staphylokokkenstamm verwendet.

Auf jedes Feld der Versuchsfläche wurden 3 Tropfen (1 Tr. ca. 0,05 ml) der Keimsuspension (Keimdicke ca. 10^8 Keime/ml) pipettiert und mit Hilfe eines Glasspatels gleichmäßig verteilt. Nach Trocknung der Flächen erfolgte die Desinfektion der Testflächen in vertikaler Stellung durch Besprühen aus ca. 10 cm Entfernung mittels einer Blumenspritze. Durch 2 Pumpenhübe (je Hub wurde 1,5 ml versprüht) wurde eine vollständige Benetzung erreicht, so daß sich ein zusammenhängender Flüssigkeitsfilm zeigte. Abweichend von den Richtlinien wurden die Kontrollflächen nicht unbehandelt gelassen, sondern in gleicher Weise an Stelle des Desinfektionsmittels mit Wasser der dH 12 besprüht.

Nach 1-, 2-, 4- und 6-stündiger Einwirkungszeit des Mittels wurde zur Entnahme der Keime jeweils ein Viertel der behandelten Flächen mit einem kleinen Wattetupfer, der vorher durch kurzes Eintauchen in Bouillon mit entsprechendem Enthemmungsmittelzusatz eben angefeuchtet war, gründlich abgerieben. Die Reibfläche des Tupfers wurde dann unter Ausübung eines leichten Druckes auf einer halben, gut vorgetrockneten Blutagarplatte ausgestrichen. In gleicher

Weise wurden auch von den nicht desinfizierten Kontrollflächen Entnahmen vorgenommen. Die Auswertung der Kulturen und Zählung der Kolonien erfolgte nach 48- und 72-stündiger Bebrütung.

Als Vergleichsmittel wurde 3%ige Formalinlösung benutzt.

2.3. Abdruckverfahren:

Entsprechend den Anweisungen (schriftl. Mitteilung, RÖDGER, 1971) wurde vor Durchführung des Abdruckverfahrens geprüft, ob der an den Testflächen haftende Desinfektionsmittelfilm Wachstumshemmung verursacht und inwieweit die Hemmung durch Zusatz eines Enthemmungsmittels zum Nährboden ausgeschaltet wird. Dazu wurden die Sperrholzbrettchen in horizontaler Lage mit 1, 2, 3, 5 und 10 %igen Desinfektionsmittelverdünnungen bis zur vollständigen Benetzung besprüht. Nach einstündigem Trocknen wurden die Brettchen mit der besprühten Seite auf die Oberfläche von Blutagarnährböden ohne und mit Zusatz von Enthemmungsmittel (nach 1.3.2.) gelegt, auf denen vorher je 0,05 ml einer 16-stündigen Bouillonkultur von Staph. aureus CB ausgespatelt worden war. Die Keimträger auf den Nährböden wurden mit 200 g-Gewichten 2 Min. lang belastet und anschließend entfernt. Die Nährböden wurden bei 37°C 24 Std. bebrütet. Es zeigte sich, daß Präp. 3 schon 1 %ig, Präp. 2 3 %ig, Präp. 4 5 %ig und Formalin 10 %ig eine Hemmung auf den Kontrollplatten ohne Enthemmungsmittel bewirkte. Bei Präp. 1 trat keine Hemmung auf. Auf den Nährböden mit Enthemmungszusätzen trat, außer bei Verwendung der 10 %igen Konzentration von Präp. 2, in allen Fällen ungestörtes Wachstum auf.

Die Wirksamkeit der von RÖDGER vorgeschlagenen Enthemmungszusätze für die hier verwendeten Versuchspräparate wurde damit bestätigt.

Das Abdruckverfahren selbst wurde folgendermaßen durchgeführt: Rohe Sperrholzbrettchen von 3 x 3 cm Größe dienten als Testflächen, die durch Auftragen von 0,05 ml einer Staphylokokkensuspension (Keimgehalt ca. 10^8 /ml) kontaminiert wurden. Die aufgebrachte Bakteriensuspension wurde auf den Testflächen so verteilt, daß Streifen von etwa 2 - 4 mm Breite längs der 4 Seiten der Testfläche unkontaminiert blieben.

Nach dem Antrocknen der Keimsuspension (ungefähr 30 Min.) wurden 4 Sperrholzbrettchen mit der kontaminierten Seite nach oben auf ein Leukoplastband aufgedrückt. Das mit Testflächen versehene Leukoplastband wurde dann auf ein senkrecht stehendes Holzbrett geklebt und in dieser Position mit der zu prüfenden Desinfektionsmittellösung bis zur vollständigen Benetzung besprüht (Sprühmenge und Abstand wie beim DGHM-Verfahren).

Eine Serie kontaminierter Testflächen wurde mit dem Vergleichsmittel (3 %ige Formaldehydlösung), eine andere mit Wasser der dH 12 besprüht.

Unmittelbar nach dem Besprühen wurden die mit den Testflächen versehenen Leukoplaststreifen auf eine senkrecht stehende Holztafel geklebt, die mit doppelseitigem Klebeband versehen war.

Nach Einwirkungszeiten von 1, 2, 4 und 6 Std. wurde jeweils ein Sperrholzbrettchen jeder Serie mit einer abgeflamnten Tiegelzange von den Leukoplaststreifen entfernt und auf die Oberfläche einer Blutplatte (mit Enthemmungsmittel) gelegt. Die Holzbrettchen wurden dann mit einem 22 g-Gewicht 2 Min. lang belastet. Anschließend wurden Gewichte und Testflächen von den Nährböden abgenommen.

Nach 48- und 72-stündiger Bebrütung der Nährböden bei 37°C wurde die Anzahl der gewachsenen Kolonien gezählt bzw. abgeschätzt.

Um gute Vergleichswerte zu erhalten, wurden von jeder Desinfektionsmittelkonzentration gleichzeitig 2 Keimträger in den Versuch genommen und die Versuche 2 x an verschiedenen Tagen bzw. von verschiedenen Personen wiederholt. Es wurde darauf geachtet, daß die Raumtemperatur in den Grenzen zwischen $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ blieb und das Versuchsmaterial während der Versuche nicht der Sonneneinstrahlung ausgesetzt war.

3. Ergebnisse

In der Tabelle 9 sind die Ergebnisse des DGHM-Spray-Desinfektionsverfahrens wiedergegeben. Die erste Spalte gibt die Konzentration der geprüften Desinfektionsmittelverdünnungen an. Die Keimdichte für die Kontamination schwankte zwischen 8 und $9 \times 10^8/\text{ml}$. Der Abtötungseffekt wurde in zweierlei Schreibweise notiert, wobei ++++ = Rasen, +++ = mehr als 50, ++ = 11 - 50, + = 1 - 10 und 0 = keine Kolonien bedeuten. U bedeutet, daß die Zahl der Kolonien nicht mehr zählbar war, jedoch kein Rasenwachstum vorlag. Die sonst angegebenen Zahlen betreffen die gezählte, bei Zahlen über 100 meistens die geschätzte Kolonienzahl. Die 6 zu jeder Einwirkungszeit und Konzentration untereinander eingetragenen Werte wurden in je 3 Versuchen ermittelt.

Tabelle 9: DGHM-Sprayverfahren mit lackierten Holzbrettchen als Keimträger (Tupfermethode)

[illegible]

Betrachtet man die Tabelle 9, so ist auf den ersten Blick zu erkennen, daß außer der 3. reinen Formalinlösung keines der geprüften Präparate einen starken Abtötungserfolg hatte. Mit steigender Konzentration ist eine zunehmende Keimreduktion zu verzeichnen. Sie trat am deutlichsten auf bei Präp. 2, geringer bei Präp. 1 und noch schwächer bei Präp. 4. Präp. 3 führte selbst in der höchsten Konzentration kaum zu einer Keimverminderung.

Auffallend war bei nur geringfügig voneinander abweichenden Keimdichten in den Keimsuspensionen bei allen geprüften Mitteln und Konzentrationen eine starke Schwankung der 6 je Einwirkungszeit erhaltenen Ergebnisse. Ich vermute, daß dies auf drei Tatsachen beruht: Nach den Richtlinien soll durch die Lackierung eine gleichmäßige Verteilung der Keimsuspension auf den Keimträger möglich sein. Bei meinen Versuchen stellte ich jedoch immer wieder fest, daß die durch den Spatel verteilte Flüssigkeit in vielen Fällen sich wieder in der Mitte der Testfläche zusammenzog, sodaß oft kaum die Hälfte der Testfläche vom Suspensionsfilm überzogen war. Dies bedingte gleichzeitig längere Trocknungszeiten. Die zweite Tatsache ist, daß durch die Aufteilung der 6 x 6 cm großen Keimträgerfläche in 4 gleichgroße Testflächen bei der Desinfektion in vertikaler Stellung das Desinfektionsmittel auf die beiden unteren Felder vielleicht etwas länger einwirken konnte als auf die oben liegenden.

Dritte, und wohl entscheidende Tatsache ist, daß je nach der Intensität, mit der die Flächen mit den angefeuchteten Tupfern abgerieben und letztere auf den Agarnährböden angedrückt und ausgestrichen wurden sowie der Größe der Tupfer und deren Feuchtigkeit unterschiedliche Mengen der Testkeime auf die Nährböden gelangten.

Die mit zunehmender Einwirkungsdauer der einzelnen Konzentrationen eigentlich zu erwartende vermehrte Keimreduktion trat nicht bei allen Präparaten gleichmäßig auf. Sie war am deutlichsten bei Präp. 1, wo sie schon ab 2 % bei 4 Std. Einwirkung sichtbar wurde. Bei Präp. 2 dagegen war der Zeitfaktor schon nicht mehr deutlich, und eigentümlicherweise wurden mit einer Konzentration von 2 % durchschnittlich günstigere Ergebnisse erzielt als bei der 3 %igen Lösung. Obwohl solche paradoxe Ergebnisse vorkommen können (ROEMER, 1953), glaube ich aufgrund der in anderen Versuchen erhaltenen Ergebnisse, daß es sich hier um einen methodisch bedingten Zufallsbefund handelt. Die bei 3 %igem Formalin vereinzelt aufgetretenen Fälle von Wachstum bei 1- und 6-stündiger Einwirkungszeit weisen ebenfalls darauf hin, daß bei Verwendung dieser Methodik doch eine relativ weite Streuung von Ergebnissen auftreten kann.

Erstaunlich ist, daß das formalinhaltige Präp. 1 gegenüber 3 %igem Formalin so schlecht abgeschnitten hat. Das ebenfalls formalinhaltige und quartäre Ammoniumverbindungen enthaltende Präp. 2 zeigte dagegen bedeutend bessere Ergebnisse, während das nur quartäre Ammoniumverbindungen enthaltende Präp. 3 schlecht abschnitt. Möglicherweise ist dies damit zu erklären, daß durch den Zusatz von anion-aktiven Waschrohstoffen bei Präp. 1 die Oberflächenspannung wesentlich herabgesetzt war und bei der vertikalen Stellung der Keimträger das Desinfektionsmittel dadurch schnell ablaufen konnte.

Bei Präp. 2 könnte durch die Kombination von Aldehyden und quartären Ammoniumbasen eine Verstärkung der adsorbierenden Eigenschaften entstanden sein, so daß die Aldehyde in ausreichender Konzentration eine genügend lange Zeit einwirkten.

Tabelle 10 zeigt die Ergebnisse der Versuche mit dem Abdruckverfahren. Außer bei Präp. 1 wurden erheblich niedrigere Koloniezahlen ausgezählt als im DGHM-Verfahren (Tab. 9). Dafür dürften verschiedene Gründe maßgebend sein. Erstens wurde zur Beimpfung je Testfläche nur ein Drittel der Keimmenge verwendet. Zweitens lagen saugfähige Keimträger vor und es werden in einem Abdruckverfahren dann nur auf der Oberfläche der Keimträger befindliche vermehrungsfähige Keime erfaßt.

Abtötung wurde mit großer Regelmäßigkeit von 3 %igem Formalin und Präp. 2 in 3- und 5 %iger Konzentration erreicht. Während bei der 1 %igen Lösung der Präp. 2 und 4 durchschnittlich die Koloniezahlen unter 50 lagen, lagen die Koloniezahlen der gleichen Konzentrationen bei Präp. 3 durchschnittlich noch über 100.

Vergleicht man die Wirksamkeit der Präp. 3 und 4 in den geprüften höheren Konzentrationen, so sieht man, daß die ermittelten Koloniezahlen bei den 5 %igen Lösungen erstaunlich eng beieinander liegen. Das Präp. 4 besaß demnach in niedrigen Konzentrationen eine annähernd gleiche Wirksamkeit wie Präp. 3.

Wie im vorangegangenen DGHM-Versuch zeigte sich auch im Abdruckverfahren nur ein relativ geringer Einfluß der Einwirkungszeit auf den Desinfektionserfolg. Man muß daraus schließen, daß unter praktischen Verhältnissen Einwirkungszeiten von mehreren Stunden mehr oder weniger bedeutungslos sind, wenn die wirksame Konzentration eines Desinfektionsmittels von Hause aus zu gering ist.

III. Desinfektionsversuche in verschiedenen Modifikationen des Bouillonverfahrens

Die unter II durchgeführten Versuche mit der DGHM-Tupfermethode und dem Abdruckverfahren nach RÖDGER erlauben vor allem eine quantitative Aussage über den Grad der eingetretenen Keimverminderung bei einer Flächendesinfektion. In einer weiteren Versuchsreihe sollte deshalb untersucht werden, ob eine Desinfektionsmittelprüfung mit Keimträgern auch im Bouillonverfahren, das allein eine Endpunktbestimmung erlaubt, möglich ist.

1. Material

1.1. Testkeim: Staph. aureus CB (wie in C.II.).

1.2. Nährböden und Enthemmungsmittel:

Als Nährböden für die Nachkultur diente für alle 3 Verfahren gewöhnliche Bouillon in Reagenzröhrchen zu je 10 ml abgefüllt. Als Enthemmungsmittel wurden der Bouillon zugesetzt:

- 0,1 % Histidin (für Präp. 1 und Formalinkontrolle)
- 0,1 % Histidin + 3 % Tween 80 + 0,3 % Lecithin
(für Präp. 2)
- 3 % Tween 80 + 0,3 % Lecithin (für Präp. 3)
- 2 % Tween 80 (für Präp. 4)

Bei den Verfahren, bei denen die Keimträger vor Einlegen in die Bouillon gespült bzw. gewaschen wurden, fanden zur Ausschaltung der bakteriostatischen Nachwirkung folgende Verfahren Verwendung:

- Bei Präp. 1 2 x Waschen mit je 10 ml steril. Leitungswasser, wobei dem ersten 0,5 ml einer frisch zubereiteten 2 %igen Na_2SO_3 -Lösung zugesetzt wurde.
- Bei Präp. 2 : Spülen in 0,5 %iger Kalischmierseifenlösung und anschließend mit, wie bei Präp. 1 hergestelltem, Natriumsulfit enthaltendem Leitungswasser.
- Bei Präp. 3 : Spülen in 0,5 %iger Kalischmierseifenlösung und anschließend in steril. Leitungswasser.
- Bei Präp. 4 : Spülen in 0,5 %iger Kalischmierseifenlösung und anschließend in ster. Leitungswasser sowie 2maliges Waschen in 1 %iger Tween 80-Lösung.

1.3. Versuchspräparate

siehe unter C. II. 1.2.

1.4. Keimträger

1.4.1. Für Verfahren 1 (Bestimmung der bakteriziden und fungiziden Wirkung im Keimträgerversuch entsprechend den Richtlinien der DGHM)

1 cm² große sterilisierte Läppchen aus engmaschigem Batist, der vor der Zerkleinerung gewaschen, getrocknet und gebügelt wurde.

1.4.2. Für Verfahren 2 (Bouillonverfahren mit Waschen):

Keimträger aus rohem Fichtenholz von 10 x 10 x 3 mm Größe. Sie wurden durch 3maliges halbstündiges Einstellen in den Dampftopf in Flaschen mit dest. Wasser sterilisiert. Jeder Keimträger wurde nur einmal verwendet. Zu Versuchsbeginn waren die Keimträger noch eben feucht.

1.4.3. Für Verfahren 3 (Bouillonverfahren ohne Waschen):

Pappelholz, roh, 4 x 8 x 20 mm.

Aluminiumblech 0,8 x 10 x 20 mm.

Keramik-Moasikplättchen DIN 18155 der Firma Villeroy & Boch 4 x 12 x 12 mm.

Sterilisation und Behandlung vor dem Versuch geschah in der unter C.III.1.4.2. genannten Weise.

2. Methoden

2.1. Keimsuspension und Keimzahlbestimmung

siehe unter C.I.2.1.

2.2. Verfahren 1:

Die Batistläppchenmethode nach C.II.5.a) der Richtlinien der DGHM wurde in einigen Punkten geringfügig verändert. Das betrifft Testkeim, Keimsuspension und Keimzahlbestimmung, eine Erweiterung der Einwirkungszeiten auf 240 Min. und die Verwendung von 3 %iger Formalinlösung als Vergleichsmittel. Diese Änderungen wurden vorgenommen, um eine bessere Vergleichbarkeit zu den übrigen durchgeführten Methoden zu erhalten. Sie stellen keine wesentliche Veränderung der Prüfungsmethodik dar.

Zur Kontamination wurden die Batistläppchen 15 Min. lang in eine Keimsuspension des Testkeimes eingelegt, die nicht weniger als 10^8 Keime/ml enthielt, und darin öfter gewendet. Je 16 kontaminierte, noch feuchte Keimträger (je 2 für die Entnahmezeiten von 2 1/2, 5, 15, 30, 60, 90, 120 und 240 Min.) wurden in eine sterile Petrischale gelegt und mit 10 ml der zu prüfenden Desinfektionsmittellösung übergossen. Die Batistläppchen wurden darin mehrfach gewendet und nach der Entnahme mit den unter C.III.1.2. aufgeführten Flüssigkeiten gewaschen. Das Waschen wurde teils

in Reagenzröhrchen, teils in sterilen Petrischalen vorgenommen. Die Waschflüssigkeit wurde in Mengen von 10 ml jeweils für einen Keimträger verwendet. Anschließend wurden die Batistlappchen in die Nährbouillon übertragen. Nach einer Bebrütungszeit von 1 Woche bei 37°C wurden die Kulturen ausgewertet. Zur Sicherung der Endwerte jeder Versuchsreihe wurden Ausstriche auf Blutagar angelegt, die nach 24 Std. Bebrütung bei 37°C abgelesen wurden. Stichprobenartig wurden klar gebliebene Ansätze der höchsten Desinfektionsmittelkonzentrationen zur Kontrolle auf eine eventuell bestehende entwicklungshemmende Nachwirkung wieder mit dem Testkeim beimpft und bebrütet. Zur Kontrolle wurden je Versuch 2 Keimträger statt in Desinfektionsmittel in Wasser der Härte 12 eingelegt und nach sonst gleicher Behandlung nach der längsten Einwirkungszeit überimpft.

2.3. Verfahren 2 (Bouillonverfahren mit Waschen)

Es wurde eine Methode gewählt, bei der die natürlichen Vorgänge der Entstehung von keimhaltigen Verunreinigungen und der Desinfektion in der Praxis in größerem Umfange berücksichtigt wurden als bei der Batistlappchenmethode. Wegen der Einfachheit der Herstellung und zur Erzielung einer weitgehenden Vergleichbarkeit mit Verfahren 3 wurde als Keimträger Holz benutzt, das auch heute noch als Baumaterial in Ställen verwendet wird. Das Auftreffen keimhaltigen Materials durch Ausscheidungen von Tieren auf den Keimträger ist meistens ein zeitlich kurzer Vorgang. Aus diesem Grunde wurde die Kontaminationszeit für die Keimträger auf ca. 20 Sek. angesetzt. Die Kontamination wurde, wie auch bei den anderen Verfahren, durch Einlegen in die Keimsuspension vorgenommen. Anschließend wurden die Keimträger zum Trocknen in vertikaler Stellung in sterilen Petrischalen auf Filterpapier (Schleicher &

Schüll, Nr. 595) aufgestellt. Die Trocknungszeit betrug 1 Std. bei geschlossenem Deckel. Sie wurden nun 2 Min. lang in ca. 30 ml Desinfektionsmittellösungen eingelegt und anschließend in sterilen Petrischälchen zur weiteren Einwirkung vertikal aufgestellt.

Das Einlegen der Keimträger in die Desinfektionsmittelverdünnungen wurde so kurz gewählt, weil normalerweise bei der Desinfektion von Räumen und Gegenständen das Desinfektionsmittel auch nur kurz aufgebracht wird und dann ablaufen bzw. verdunsten kann (vertikale Stellung während der Einwirkungszeit).

Nach Einwirkungszeiten von 30, 60, 120 und 240 Min. wurden die Keimträger wie bei Verfahren 1 gewaschen und in die mit Enthemmungsmitteln versehene Bouillon übertragen. Zur jeweils längsten Einwirkungszeit wurden pro Versuch 2 Kontrollen angelegt, wobei die Keimträger unter Einhaltung des übrigen Verfahrens statt in Desinfektionsmittel in Wasser von 12° dH eingelegt und zweimal mit sterilem Leitungswasser gewaschen wurden.

Nach einer Bebrütungszeit von 72 Std. bei 37°C wurde abgelesen. Von bewachsenen Röhrchen bzw. in zweifelhaften Fällen wurden Subkulturen auf Blutagar angelegt und nach 24 - 48-stündiger Bebrütung bei 37°C ausgewertet. Stichprobenartig wurden klar gebliebene Ansätze bei den höchsten Desinfektionsmittelkonzentrationen wieder mit dem Testkeim beimpft und bebrütet, um eine Nachwirkung der Desinfektionsmittel auszuschließen. Pro Versuch wurden je Konzentration und Einwirkungszeit 2 Keimträger verwendet und die Versuche an 3 verschiedenen Tagen bzw. von 2 verschiedenen Personen durchgeführt. Alle Versuche fanden bei Zimmertemperaturen von 18 - 22°C statt.

2.4. Verfahren 3 (Bouillonverfahren ohne Waschen)

Das bei Verfahren 2 geübte Waschen wurde bei diesem Verfahren weggelassen. Sonst entspricht es in allen Einzelheiten der Durchführung und der Technik Verfahren 2. Als Keimträger wurden Pappelholz, Aluminiumblech und Keramik-Mosaikplättchen verwendet.

3. Ergebnisse

In den Tabellen 11 und 12 sind die Ergebnisse der Versuche mit Verfahren 1 (Batistläppchenmethode der DGHM) wiedergegeben. Die Streuung der Ergebnisse innerhalb der jeweils 6 Proben ist dabei relativ klein. Das spricht für die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Bei diesem Verfahren konnte Abtötung mit allen Präparaten erreicht werden. Am raschesten wirkte Präparat 4 (Abtötung bei 2 % schon nach 2 1/2 Min.). Bei den Präparaten 2 und 3 wurde mit 5 % nach 30 Min. komplette Abtötung erzielt.

Das Vergleichsmittel (3 %iges Formalin) erreichte Abtötung erst nach 60 Min., wirkte also schlechter als die Testpräparate 1 - 4.

Die Ergebnisse des Verfahrens 2 mit Fichtenholz als Keimträgermaterial zeigt Tabelle 13. Hier fielen die Ergebnisse fast umgekehrt aus. Lediglich das Vergleichsmittel Formalin wirkte in der gleichen Zeit (60 Min.) wie in Verfahren 1; und auch bei Präparat 1 traten nur geringfügige Unterschiede auf. Die Präparate 3 und 4 versagten fast völlig; Präparat 2 hatte einen vollen Abtötungseffekt erst bei 5 %iger Anwendung nach 2 Std.

In die Tabellen 14 - 16 sind die Ergebnisse des Verfahrens 3 unter Verwendung der Keimträger Pappelholz (Tab. 14), Aluminium (Tab. 15) und Keramik (Tab. 16) eingetragen.

Die mit Pappelholz gefundenen Ergebnisse stimmen im wesentlichen mit denen des Verfahrens 2, in dem Fichtenholz verwendet wurde, überein. Abtötungsergebnisse wurden nur mit Präparat 1 und Präparat 2 bzw. dem Vergleichsmittel Formalin (3 %) erzielt. Bei Präparat 1 war mit 1 %iger Lösung nach 240 Min., mit 3 %iger nach 120 Min. und mit 5 %iger Lösung schon nach 30 Min. eine komplette Abtötung in allen Proben erreicht. Präparat 2 wirkte etwas langsamer; Abtötung wurde erzielt in 3 %iger Lösung nach 240 Min. und mit 5 %iger Lösung nach 120 Min. Demgegenüber versagten die Präparate 3 und 4 auch bei Konzentrationen von 5 % vollständig.

Entgegengesetzt fielen die Ergebnisse mit Aluminium- und Keramik-Keimträgern aus. Hier bewirkten die Präparate 2, 3 und 4 schon innerhalb von 30 Min. eine 100 %ige Abtötung, während bei Präparat 1 nach 30 Min. vereinzelt noch in 1 bzw. 2 %iger Konzentration Wachstum auftrat. Da das Keramikmaterial als Keimträger mit rauher Oberfläche schlechtere Desinfektionsergebnisse als Aluminium hätte erwarten lassen, wurde vermutet, daß der unerwartet gute Desinfektionserfolg auf Nachwirkung der Desinfektionsmittel beruhte. Diesbezüglich angestellte Versuche mit 1 %iger Lösung von Präparat 4 und Tween 80-Zusätzen von 2 - 10 % sowie einwöchige Bebrütung der Ansätze konnten diese Vermutung nicht bestätigen.

Tabelle 13: Bouillonverfahren mit Fichtenholz als Keimträger und Waschen. Testkeim: Staph. aureus CB

	PRÄPARAT 1				PRÄPARAT 2				PRÄPARAT 3				PRÄPARAT 4			
	Keimzahl/ml: 6-8 x 10 ⁸				Keimzahl/ml: 6-8 x 10 ⁸				Keimzahl/ml: 6-7 x 10 ⁸				Keimzahl/ml: 5-8 x 10 ⁸			
Konz.	30'	60'	120'	240'	30'	60'	120'	240'	30'	60'	120'	240'	30'	60'	120'	240'
1 %	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Forma- lin 3 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kontr.				+				+				+				+

Tabelle 14: Bouillonverfahren mit Pappelholz als Keimträger
(ohne Waschvorgang). Testkeim: Staph. aureus CB

	PRÄPARAT 1					PRÄPARAT 2					PRÄPARAT 3					PRÄPARAT 4				
	Keimzahl/ml: 9 1,2x10 ⁸ - 5,2x10 ⁹					Keimzahl/ml: 9 3x10 ⁹ - 5,2x10 ⁹					Keimzahl/ml: 8 1,3x10 ⁸ - 3,5x10 ⁸					Keimzahl/ml: 8 1,2x10 ⁷ - 1,4x10 ⁸				
Konz.	30'	60'	120'	240'		30'	60'	120'	240'		30'	60'	120'	240'		30'	60'	120'	240'	
1 %	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
2 %	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
3 %	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
5 %	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
	+	+	+	-		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+
Forma- lin 3 %	-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-	-
	-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-	-
	-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-	-
	-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-	-
	-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-		-	-	-	-	-
Kontr.	+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	+

D. Besprechung der Ergebnisse

Die vorliegende Arbeit galt der Erprobung und dem Vergleich verschiedener Keimträgermethoden für die Prüfung von Desinfektionsmitteln, die vornehmlich in der Stall-desinfektion Verwendung finden. Hierzu wurden in einer Anzahl von Versuchen Formalin, Phenol, 11 Handelspräparate sowie 4 Versuchspräparate verschiedener Zusammensetzung mit den Keimträgermaterialien Ziegel, Putz, Holz, Plastik, Keramik, Aluminium und Batist gegen Coli- und Proteusbakterien sowie zwei Staphylokokkenstämme geprüft. Dabei wurden drei Modifikationen des Bouillonverfahrens, das in den Richtlinien der DGHM vorgeschriebene Keimträgerverfahren mit Batistläppchen, das Abdruckverfahren nach RÖDGER und das nach den DGHM-Richtlinien vorgeschriebene "Tupfverfahren" für die Spray-Desinfektion angewendet.

Die unter C.I. aufgeführten Vorversuche der Versuchsreihen 1 und 2 ergaben, daß bei Einwirkung der Desinfektionsmittel auf horizontal gelagerte Keimträger glatte, nicht saugfähige Keimträger (Plastik, Aluminium) schnell und gut, dagegen saugfähige, poröse Keimträger (Ziegel, Putz) mit zunehmender Porengröße umso schlechter desinfiziert werden. Holz läßt sich nur schwer in dieses Schema einordnen. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen ließ sich ein Desinfektionserfolg bei Holzkeimträgern nur mit Formalin feststellen.

Weiterhin zeigte sich, daß Staphylokokken sich teilweise schlechter abtöten lassen als gramnegative Bakterien. Der Desinfektionserfolg war bedeutend besser, wenn Keimträger mit geringeren Keimzahlen (ca. 10^5 /ml) kontaminiert waren als mit größeren Keimmengen (10^8 bis 10^{11} /ml). Unterschiede im Bereich von 10^8 und 10^{11} /ml wirkten sich aller-

dings auf den Desinfektionserfolg nicht mehr aus. Die Prüfung der Gebrauchskonzentrationen einiger Handelspräparate unter Serumbelastung in Keimträgerversuchen machten deutlich, für wie wenig verlässlich sich vielfach Angaben der Hersteller erweisen, wenn eine Prüfung unter praxisnahen Bedingungen erfolgt.

Die in den Vorversuchen gemachten Erfahrungen wurden bei der Planung der in den Abschnitten C.II. und C.III. aufgeführten Versuche mit verwertet. Diese Versuche wurden einheitlich mit 4 Versuchspräparaten auf unterschiedlicher Wirkstoffbasis in den Konzentrationen 1, 2, 3 und 5 % und dem Teststamm Staph. aureus CB bei Verwendung etwa gleicher Keimzahlen in den Keimsuspensionen und weitgehend gleichen Einwirkungszeiten durchgeführt. Als Vergleichsmittel wurde stets 3 %iges Formalin mitgeprüft. Alle Versuche wurden bei Zimmertemperatur ausgeführt und bei der Herstellung von Lösungen und der Durchführung der Versuche auf eine weitgehende Konstanz der Bedingungen geachtet.

Der Vergleich der Ergebnisse aller Hauptversuche zeigt, daß eine Prüfung mit unterschiedlichen Methoden nicht nur je nach Keimträgermaterial zu höheren oder niedrigeren Abtötungskonzentrationen und -zeiten, sondern auch zu einer wechselnden Reihenfolge in der Bewertung der einzelnen Präparate zueinander führte. Das Abschneiden der Präparate ist nachfolgend noch einmal tabellarisch dargestellt:

Methode	gut ----- schlecht			
1. Spray-Desinf. DGHM-Richtl.	Pr. 2	Pr. 1	Pr. 4	Pr. 3
2. Abdruckverf. RÖDGER	Pr. 2	Pr. 4	Pr. 3	Pr. 1
3. Batistverf. DGHM-Richtl.	Pr. 4	Pr. 2/3		Pr. 1
4. Bouillonverf.m.Waschen (Holz)	Pr. 1	Pr. 2	Pr. 4	Pr. 3
5. Bouillonverf. o. Waschen				
Holz	Pr. 1	Pr. 2	Pr. 3/4	
Aluminium	Pr. 2/3/4		Pr. 1	
Keramik	Pr. 2/3/4		Pr. 1	

Man sieht daraus, daß Methodik und Keimträgermaterial die zentralen Kriterien sein müssen, die zu den unterschiedlichen Ergebnissen geführt haben.

Besonders große Schwankungen im Desinfektionserfolg zeigt das Präp. 1. Es schnitt im Bouillonverfahren bei Verwendung von Holzkeimträgern zweimal am besten ab, während es bei Verwendung rohen Holzes im Abdruckverfahren an letzter Stelle steht. Lackiertes Holz bei dem Spraydesinfektionsverfahren nach den DGHM-Richtlinien führte zu einer Einstufung an zweiter Stelle. Bei Verwendung anderer Keimträger im Bouillonverfahren steht es stets an letzter Stelle. Wie ist dies zu erklären?

Präp. 1 enthielt Formaldehyd und anionaktive Waschrohstoffe. In allen Versuchen schnitt es schlechter ab als die 3 %ige Formalinkontrolle. Dies kann durch einen geringeren Formaldehydgehalt des Präparates oder durch die zugesetzten Waschrohstoffe bedingt sein. Wie schon erwähnt, besitzt Formaldehyd eine große Neigung zu spontaner Polymerisation zu Paraformaldehyd. Diese Reaktion kann auch schon bei Zimmertemperatur ablaufen. Formaldehyd ist leicht flüchtig. Seine Wirksamkeit als Gas ist aber von der Luftfeuchtigkeit abhängig. PHILLIPS und WARSHOWSKY (1958)

fordern eine relative Luftfeuchte von mindestens 70 %, WALLHÄUSER und SCHMIDT (1967) nennen einen Bereich ausreichender Wirksamkeitskonstanz von 58 - 100 % rel. Luftfeuchte, wobei bei 80 - 90 % die besten Ergebnisse erzielt werden sollen. Als Gas besitzt Formalin ein ausgesprochen schlechtes Diffusionsvermögen, so daß es in dieser Form mehr oder weniger nur "Oberflächendesinfektionsmittel" sein kann. (WALLHÄUSER u. SCHMIDT).

Die jeweils bei Versuchsablauf im Raum herrschende Luftfeuchtigkeit dürfte allerdings, selbst wenn sie geringfügig schwankte, die Ergebnisse kaum so entscheidend beeinflussen haben. Ein wichtiger Unterschied bestand aber methodisch gesehen darin, daß im Abdruckverfahren nach RÖDGER (C.II.2.3.) die Holzkeimträger nach der Desinfektion frei im Raume trocknen konnten, während in den Bouillonverfahren 2 und 3 die Holzkeimträger nach der Desinfektion in geschlossenen Petrischalen gelagert wurden, wo sich durch Verdunstung eine hohe Luftfeuchtigkeit ausbilden konnte.

Ich nehme an, daß im Abdruckverfahren das Desinfektionsmittel schnell vom Keimträger aufgesogen wurde und an der Oberfläche zu rasch verdunstete, um eine Abtötung der dort vorhandenen Keime erreichen zu können. In den Bouillonverfahren 2 und 3 konnte in den geschlossenen Glasschalen eine zusätzliche Oberflächendesinfektion durch den hohen Formaldehydgehalt der Luft hinzutreten.

Das günstige Abschneiden des Präp. 1 im Spray-Desinfektionsverfahren nach den Richtlinien muß hierzu nicht im Widerspruch stehen, wenn man an die hohe Reaktionsfähigkeit des Formaldehyds mit Aminosäuren und Proteinen sowie die Möglichkeit der Bildung eines Paraformaldehydfilmes

an der Oberfläche der Keimträger denkt. Daß das Keimträgermaterial und sicher noch eine Reihe anderer Faktoren ebenfalls eine bedeutende Rolle spielen, zeigen die Ergebnisse mit anderen Keimträgern als Holz in demselben bzw. anderen Verfahren.

Betrachtet man die mit Präp. 4 erzielten Ergebnisse, so ist festzustellen, daß es stets zumindest gleichgut oder besser als Präp. 3 und nur im Batistverfahren besser als Präp. 2 abschnitt. Das Batistverfahren unterschied sich jedoch von den anderen Methoden insbesondere dadurch, daß die Keimträger für die gesamte Dauer der Einwirkungszeit in der Desinfektionslösung liegen blieben. Auch ein Trocknen der Keimträger vor der Desinfektion ist in diesem Verfahren nicht vorgesehen. Bei der praktischen Flächendesinfektion ist aber mit angetrocknetem keimhaltigem Material und erheblich geringeren Desinfektionsmittelmengen (durch Abfließen, Aufsaugen, Verdunsten) zu rechnen. Die Batistläppchenmethode wird damit den praktischen Verhältnissen der veterinärmedizinischen Einsatzbereiche nicht gerecht.

Eine Bewertung der absoluten Abtötungszeiten (Endpunktbestimmung) von Desinfektionsmitteln stellt zweifelsohne eine Erschwerung der Prüfungsbedingungen dar, weil dabei der Grad der Keimreduzierung nur unvollständig berücksichtigt wird. Vergleicht man DGHM-Tupfermethode und Abdruckverfahren nach RÖDGER mit den Bouillonverfahren 2 und 3, die alle mit Holzkeimträgern durchgeführt wurden, in dieser Hinsicht, so ist folgendes festzustellen:

Im Tupferverfahren konnte mit keinem der Präparate (Tab.9), im Abdruckverfahren mit den Präp. 1, 3 und 4 keine volle Abtötung in allen Proben im Zeitraum bis zu 6 Std. erzielt werden. Dagegen war im Abdruckverfahren bei Präp. 2 in

3 %iger und 5 %iger Konzentration bereits nach 60 Min. ein völliger Abtötungseffekt aufgetreten. Im Bouillonverfahren 2 (mit Waschen) wurde dagegen auch mit Präp. 1 in 2 %iger und 3 %iger Lösung nach 240 Min. und mit 5 %iger in 120 Min. Abtötung erreicht; mit Präp. 2 aber erst bei 5 %iger Lösung innerhalb von 120 Min. Im Bouillonverfahren 3 (ohne Waschen) bewirkte Präp. 1 mit 1 %iger Lösung in 240 Min., mit 3 %iger in 120 Min. und mit 5 %iger Lösung in 30 Min. Abtötung, während Präp. 2 3 %ig in 240 Min. und 5 %ig in 120 Min. die Testkeime in allen Proben abtötete.

Mit Holz als Keimträger hat im Bouillonverfahren 2 (mit Waschen) also Präp. 1 schlechter abgeschnitten als in Bouillonverfahren 3, während bei Präp. 2 die Unterschiede nicht so deutlich waren. Das zeigt, daß die Angaben von absoluten Abtötungszeiten (Endpunktmethode) u. U. zu einer unterschiedlichen Beurteilung eines Desinfektionsmittels führen kann, obwohl die tatsächlichen Absterbekurven der Testkeime in beiden Verfahren im Grunde sehr ähnlich verlaufen.

Betrachtet man die Ergebnisse der Vergleichsuntersuchungen im Hinblick auf die zur Verwendung gekommenen Stoffklassen der Desinfektionsmittel, so läßt sich aussagen, daß die quartären Ammoniumverbindungen den geringsten, das Formaldehydpräparat wechselnden und das Phenolpräparat mittelmäßigen Desinfektionserfolg erzielten, während mit der Kombination aus Aldehyden und quartären Ammoniumverbindungen regelmäßig gute Desinfektionsergebnisse verzeichnet werden konnten. Läßt man außer acht, daß die Gebrauchskonzentrationen der in den Tabellen 7 und 8 aufgeführten Handelspräparate evtl. zu niedrig angesetzt

wurden, so ist auch dort festzustellen, daß bei dem relativ schwer zu desinfizierenden Putzmaterial die Quats Nobiosept und Bradophen in keinem Falle einen Abtötungserfolg erzielten, während Formalin- und Phenolpräparate mäßig bis gut abschnitten. Selbst bei dem leicht zu desinfizierenden Aluminiummaterial zeigte vor allem Bradophen innerhalb von 10 Min. noch unsichere Ergebnisse.

Formalin und formalinhaltige Präparate wirkten, wie aus Tabelle 8 und den unter C.II. und C.III. dargestellten Versuchsergebnissen hervorgeht, nicht sehr rasch, und die Abtötungszeiten auf glatten Keimträgern (Aluminium) waren durchweg länger als bei anderen Präparaten. Bei Verwendung von Holz als Keimträger erwiesen sich die Formalin- und Aldehydpräparate dagegen allen anderen Desinfektionsmitteln gegenüber als eindeutig überlegen. Gerade unter erschwerten Bedingungen scheinen sie somit eine relativ konstante Wirkung zu besitzen, was für ihre Anwendbarkeit zur Stalldesinfektion zweifellos von großem Vorteil ist.

Vergleicht man die Ergebnisse der mit den modifizierten Bouillonverfahren und verschiedenen Keimträgern sowie der Abdruckmethode durchgeführten Versuche mit den DGHM-Prüfungsverfahren, so zeigt sich, daß im Tupfverfahren der DGHM-Richtlinien sich schlechtere und insbesondere inkonstantere Desinfektionsergebnisse ergaben als in der Abdruckmethode nach RÖDGER. Bei beiden Verfahren ist allerdings eine quantitative Auswertung der Desinfektionswirkung durch Auszählen von Kolonien möglich. In der Batistläppchenmethode nach den DGHM-Richtlinien schnitten die Desinfektionsmittel dagegen stets sehr viel günstiger ab als in den anderen Keimträgerversuchen. Sie scheint mir daher für eine zutreffende Beurteilung von Flächendesinfektionsmitteln nicht die geeignete Methode zu sein.

Das Flächendesinfektionsmodell der DGHM-Tupfermethode und das Abdruckverfahren nach RÖDGER ahmen die Praxisverhältnisse sicher besser nach, vor allen Dingen unter Verwendung nicht lackierter Holzbrettchen als Keimträger. Das RÖDGER'sche Verfahren hat dabei, zumindest bei der Verwendung von Staphylokokken als Testkeime, besonders konstante und reproduzierbare Ergebnisse geliefert. Vor einem endgültigen Urteil über dieses Verfahren müßten aber noch Versuche mit anderen Testkeimen und anderen Keimträgermaterialien vorgenommen werden.

Von entscheidender Bedeutung scheint mir aber zu sein, daß bei beiden Verfahren eine deutliche Wirkung der Desinfektionsmittel praktisch nur in den ersten 1 - 2 Stunden vorliegt und bei längeren Einwirkungszeiten keine oder nur noch eine geringe Reduktion der Testkeime erfolgt. Bei längeren Einwirkungszeiten ist zweifellos auch mit einer vermehrten spontanen Absterberate von Keimen zu rechnen. MOSSEL, KAMPELMACHER und VAN NOORLE JANSEN (1966) haben z. B. bei Versuchen zur Desinfektion hölzerner Geräte in fleischverarbeitenden Betrieben festgestellt, daß bei Nachkontrollen 12 Std. nach Vornahme der Desinfektion häufig ein Desinfektionserfolg durch das normale Absterben der Testkeime vorgetäuscht wurde. Die bei meinen Versuchen nach 4 oder 6 Std. teilweise aufgetretene geringfügige Keimreduktion auf dem hölzernen Trägermaterial könnte durchaus die gleiche Ursache gehabt haben.

Dieser Umstand wird vor allem bei Verwendung von Testkeimarten zu beachten sein, die von Hause aus weniger resistent sind als Staphylokokken wie z. B. gramnegative Bakterien. Zur Erzielung brauchbarer Prüfungsergebnisse für Flächendesinfektionsmittel sollten deshalb m. E. Einwirkungszeiten von 1 und evtl. 2 Std. nicht überschritten werden. Längere Einwirkungszeiten erhöhen das Fehlerrisiko

und führen nur zu einer unnötigen Erhöhung des Materialverbrauches und einer Verlängerung der Versuchsdauer.

Wie sind die verschiedenen Bouillonverfahren mit Keimträgern im Hinblick auf ihre Aussagekraft zu bewerten?

In den Vorversuchen wurde ein Bouillonverfahren angewendet, das eine Kontaminationszeit von einer Stunde und eine direkte Kontaktzeit mit der Desinfektionsmittellösung von 10 Min. vorsah. Im Batistlappchenverfahren der DGHM-Richtlinien ist eine 15-minütige Kontamination und eine Kontaktzeit mit dem Desinfektionsmittel vorgeschrieben, die den vollen Einwirkungszeiten entspricht.

In den modifizierten Bouillonverfahren 2 und 3 wurden von mir beide Zeiten bewußt erheblich verkürzt, um praxisnäher zu verfahren. Die Versuchsergebnisse, vor allem die stets positiv ausfallenden Kontrollen, beweisen, daß auch eine nur wenige Sekunden währende Kontaminationszeit mit dem Testkeim, eine kurze Antrocknungszeit und eine 2-minütige Einlegezeit in eine Desinfektionsmittellösung, die der natürlichen Kontaktzeit bei Sprühverfahren näher kommt, brauchbare Ergebnisse liefern. Es zeigte sich, daß das umständliche und materialaufwendige Auswaschen des Desinfektionsmittels am Ende der Einwirkungszeit nicht mehr notwendig ist, wenn die Nährböden die nötigen Enthemmungszusätze enthalten.

Deshalb scheint mir das Bouillonverfahren 3 (C.III.2.4.) seiner Einfachheit und Empfindlichkeit wegen geeignet zu sein, die im RÜDGER'schen Verfahren gefundenen quantitativen Ergebnisse durch eine Endpunktbestimmung zu ergänzen. Allerdings müßte es vom Methodischen her noch ein wenig abgeändert werden, um voneinander abweichende Ergebnisse möglichst zu verhindern. Als Ursache von solchen

Differenzen scheint die Art des Antrocknens der Keime und der Luftaustausch während der Einwirkungszeit der Desinfektionsmittellösungen eine Rolle zu spielen. Es sollte deshalb vor allem vermieden werden, daß flüchtige Desinfektionsstoffe (z. B. Formaldehyd) zusätzlich zur Wirkung kommen, wenn Keimträger in geschlossenen Petrischalen während der Einwirkungszeit aufbewahrt werden.

E. Zusammenfassung

Auf der Suche nach geeigneten Keimträgerverfahren für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel, die in der Veterinärmedizin zur Flächendesinfektion angewendet werden sollen, wurden in Vorversuchen Ziegel-, Putz-, Plastik-, Holz- und Aluminiumkeimträger, die mit *Staphylococcus aureus* CB, *E. coli* und *Proteus vulgaris* kontaminiert waren, mit Formalin, Phenol und einer Anzahl von Handelspräparaten desinfiziert. In den Hauptversuchen wurden ein Abdruckverfahren (nach RÖDGER) und 2 Bouillonverfahren mit der Batistkläppchen- und der Tupfermethode gemäß den Richtlinien der DGHM verglichen. Dazu wurden 4 Versuchspräparate unterschiedlicher Zusammensetzung in 1, 2, 3 und 5 %iger Konzentration gegenüber 3 %igem Formalin DAB 7 (1,1 % Formaldehyd) als Vergleichsmittel mit *Staphylococcus aureus* CB als Testkeim untersucht. Als Keimträger wurden verwendet: Holz, Keramik und Aluminium. Die Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. An rauen Keimträgern (Putz, Ziegel, Holz) wirkten i. d. R. nur Formalin und formalinhaltige Präparate, Chloramine und halogenierte Phenole in den üblichen Gebrauchskonzentrationen innerhalb einer Zeit von 1 - 2 Std. abtötend für die Testbakterien. Quartäre Ammoniumbasen erwiesen sich in diesem Zeitraum als unwirksam.

2. Glatte Keimträger (Plastik, Aluminium) ließen sich i. d. R. längstens innerhalb 30 - 60 Min. von allen Stoffklassen der geprüften Desinfektionsmittel gut desinfizieren. Hier benötigten auffallenderweise formalinhaltige Präparate die längsten Einwirkungszeiten.

3. Bei Verwendung unterschiedlicher Methoden (Bouillonverfahren mit Endpunktbestimmung, Tupfermethode der DGHM, Abdruckverfahren) traten in Abhängigkeit von der Beschaffenheit der Keimträger, Art und Menge der Testkeime, Antrocknungszeit der Erreger und Kontaktzeit mit dem Desinfektionsmittel Differenzen hinsichtlich Einwirkungszeit und optimaler Konzentration auf, die eine sichere Bewertung der Desinfektionswirkung erschweren.

4. Ein Prüfungsverfahren für chemische Desinfektionsmittel, die im Bereich der Veterinärmedizin zur Flächen-desinfektion eingesetzt werden, sollte aufgrund der gemachten Erfahrungen folgende Punkte berücksichtigen:

- a) Als Keimträger sind verschiedene Materialien (z. B. Holz, Beton, Metall), die im Stallbau Verwendung finden, nebeneinander zu benützen.
- b) Für die Kontamination sind hohe Keimzahlen (ca. 10^8 /ml), kurzer Kontakt mit dem Testkeim und stets gleichlange Antrocknungszeiten bei konstanten äußeren Bedingungen (Temperatur und Feuchtigkeit) erforderlich.
- c) Die direkte Kontaktzeit mit einem Desinfektionsmittel sollte den Verhältnissen bei der praktischen Desinfektion entsprechen, d. h. die Keimträger sollten entweder bis zur vollständigen Befeuchtung mit dem Desinfektionsmittel besprüht oder nur kurz (1 - 2 Min.) in die Desinfektionslösung eingelegt werden.
- d) Der Abtötungseffekt eines Desinfektionsmittels sollte innerhalb 2 Std. nach der Kontaktzeit auftreten. Bei längeren Einwirkungszeiten kann infolge spontanen Absterbens von Keimen fälschlicherweise eine Desinfektionswirkung vorgetäuscht werden.

- e) Auf ein Auswaschen des Desinfektionsmittels aus den Keimträgern am Ende der vorgesehenen Einwirkungszeiten kann verzichtet werden, wenn die verwendeten Nährböden entsprechende Zusätze von Enthemmungsmitteln enthalten.
5. Unter Berücksichtigung der unter Punkt 4 erwähnten Voraussetzungen wird für ein Prüfungsverfahren eine Kombination der Abdruckmethode (quantitative Bestimmung der Keimreduktion) und des Bouillonverfahrens mit verschiedenen Keimträgern (Endpunktmethode) empfohlen.

F. Literaturverzeichnis

1. Adam, W., K. Grossgebauer, L. Grün, K. Heicken, Th. Lam-
mers, K. Liebermeister, K. Mühlens, H. Ostertag, C.A.
Primavesi, B. Schmidt, K. Wagener und R. Wohlrab:
Richtlinien für die Prüfung chemischer Des-
infektionsmittel. 2. Auflage.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1969.
2. Boden, W.: Zur Prüfung auf Wirksamkeit von Desinfek-
tionsmitteln mit dem Stamm *Brucella abortus*
Buck 19.
Mh. Vet.-Med. 18, 43 - 52 (1963).
3. Boden, W.: Beitrag zur Phenolresistenz von *Escherichia*
coli.
Mh. Vet.-Med. 19, 906 - 908 (1964)
4. Breijer, H.B.G., H.W. Julius, and F.J. Bos:
Experiments in the disinfection of raw
lettuce, Part. I: Bacteriological aspects.
Tropical a. Geographical Medicine 12, 149 -
161 Amsterdam (1960)
5. Davis, J.C.: Methods for the evaluation of the antibacte-
rial activity of surface active compounds:
technical aspects of the problem.
J. appl. Bact. 23, 318 - 344 (1960)
6. Engelhard, H. und Th. Houtermanns:
Über nicht-exponentielle Absterbekurven von
Bakterien und die Temperaturabhängigkeit bei
Giftwirkungen.
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 135, 486 - 498 (1952)

7. Friedemann, J.: Probleme der Standardisierung von Desinfektionsmittelprüfungen.
Arch. exp. Vet.-Med. 21, 206 - 217 (1967)
8. Greuel, E.: Die Beurteilung viruswirksamer Desinfektionsmittel im Keimträgerversuch unter Verwendung der Viruskultur im exembryonierten Ei.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 76, 161 - 165 (1963)
9. Grün, L.: Desinfektion und Sterilisation in der Praxis.
Dtsch. med. Wschr. 90, 566 - 570 (1965)
10. Gust, R. und R. Witzzenhausen:
Über die Eignung von Koniferenölen als Desinfektionsmittel.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 160, 270 - 273 (1953)
11. Heicken, K.: Die Prüfung und Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel für die Zimmerdesinfektion.
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 129, 538 - 569 (1949)
12. Heicken, K.: Über die Stalldesinfektion bei Tuberkulose.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 64, 94 - 97 (1951)
13. Hoffmann, K.: Vergleichende Untersuchungen über verschiedene Desinfektionsmittel an der Haut von Tieren.
Vet. Med. Diss. München (1955)
14. Holz, W.: Neue Untersuchungsverfahren zur Prüfung von Desinfektionsmitteln auf Bakterizidie unter besonderer Berücksichtigung der Flächendesinfektion bei Tuberkulose.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 162, 452 - 474 (1955)

15. Holz, W.: Flächendesinfektionsversuche mit dem New-castle-disease-Virus.
Z. Hyg. Infekt.-Kr. 144, 372 - 388 (1958)
16. Holz, W.: Zum Problem der Desinfektionsmittelnachwirkung bei Desinfektionsversuchen an Tuberkelbakterien.
Zbl. Vet. Med. B, 5, 91 - 100 (1958)
17. Hall, L.B., and M.J. Hartnett:
Measurement of the bacterial contamination on surfaces in hospitals.
Publ. Hlth. Rep. 79, 1021 (1964)
18. Kanz, E.: zit. nach 19.
19. Klein, H.J. u. H.P. Werner:
Eine einfache Methode zur Anfertigung von Abklatschkulturen für den Nachweis von Keimträgern bei der Bekämpfung des Hospitalismus.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 211, 395 - 399 (1969)
20. Kirchhoff, H.: Zur Resistenzsteigerung von Mikroorganismen gegenüber Desinfektionsmitteln.
Gesundheitswesen und Desinfektion 56, 153 - 156 (1964)
21. Lawrence, C.A., and S.S. Block:
Disinfection, Sterilisation and Preservation.
LEA and Febiger, Philadelphia 1968
22. Leistner, L.: Desinfektion oder Stimulierung der Mikroorganismen.
Arch. Lebensmittelhyg. 8, 124 - 126 (1957)

23. Lembke, A. und F. Wasserfall:

Zur Methodik der bakteriologischen Laboratoriumsprüfung von Desinfektionsmitteln.
Kieler Milchw. Forsch.-Ber. 14, 11 - 22
(1962)

24. Lodenkämper, H. und H. Spieker:

Über die Abhängigkeit der Desinfektionsmittelwirkung von der Wahl des Emulgators.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 159, 526 - 533
(1953)

25. Meyn, A. und Th. Schliesser:

Desinfektionsversuche an Tuberkelbakterien mit dem Präparat "QE 383".
Mh. Tierhk., Sonderteil "Die Rindertuberkulose", Heft 7, 187 - 192 (1955)

26. Meyn, A. und Th. Schliesser:

Die Stalldesinfektion bei der Rindertuberkulosebekämpfung.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 69, 355 - 357
(1956)

27. Mossel, D.A.A., E.H. Kampelmacher, and L.M. van Noorle Jansen:

Verification of adequate sanitation of wooden surfaces used in meat and poultry processing.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 201, 91 - 104 (1966)

28. v.d. Mosel, H.: Die Breite der keimtötenden Wirkung und das Resistenzproblem des Desinfektionsmittels "Tego 51".

Die Fleischwirtschaft 12, 460 - 461 (1960)

29. Moussa, O.K.: Die Anwendung des Agar-Abklatschverfahrens zur Stufenkontrolle der Desinfektion von Geflügelställen.
Vet. Med. Diss. Gießen (1971)
30. Ostrander, W.E., and L.J. Griffith:
Evaluation of disinfectants for hospital housekeeping use.
Appl. Microbiol. 12, 462 - 463 (1964)
31. Phillips, Ch.R., and B. Warshowsky:
Chemical disinfectants.
Ann. Rev. Microbiol. 12, 525 - 550 (1958)
32. Public Health Laboratory Service Committee:
Use of disinfectants in hospital.
Brit. med. J. 1, 403 - 408 (1965)
33. Reuss, U.: Die Verwendung des Desinfektionsmittels Tego 51 auf verschiedenen tierärztlichen Arbeitsgebieten unter besonderer Berücksichtigung seiner bakteriziden und viruziden Wirkung.
Wien. tierärztl. Mschr. 52, 773 - 784 (1965)
34. Reddish, G.F.: Antiseptics Disinfectants, Fungicid and Chemical and Physical Sterilization.
LEA and Febiger, Philadelphia 1954
35. Reichenbach, N.N.: Die theoretischen Grundlagen der Desinfektion.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 89, 15 - 28 (1923)
36. Roemer, G.B.: Zur Frage der Wirkung von Desinfektionsmitteln, insbesondere Zephirol, im Keimträgerversuch.
Z. Immun.-Forsch. 110, 228 - 239 (1953)

37. Rogers, M.R., J.T. Maher, and A.M. Kaplan:
A practical approach to evaluation of the
germicidal efficiency of a general purpose military disinfectant.
Appl. Microbiol. 9, 497 - 501 (1961)
38. Rödger, J.: persönliche Mitteilung 1971
39. Schels, H.: Desinfektionsversuche an Mycobacterium
avium mit dem Präparat Sigambol A.
Vet. Med. Diss. München (1958)
40. Schönherr, W.: Desinfektion und Rindertuberkulose.
Arch. exp. Vet.-Med. 15, 1172 - 1204 (1961)
41. Schmitz, A.: Gedanken und Wege zur Weiterentwicklung
oberflächenaktiver Desinfektionsmittel.
Goldschmidt informiert, Heft 1 (1967)
42. Schnabel, N.N.: Überempfindlichkeitsversuche an Bakterien.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 89, 111 - 112
(1923)
43. Sinell, H.J. und R. Levetzow:
Versuche zur Desinfektionswirkung von "Tegol",
insbesondere gegenüber Staphylokokken.
Die Fleischwirtschaft 44, 112 - 114 und
116 - 117 (1964)
44. Šimunek, J.: Über die Wirkung einiger Desinfektionsmittel
bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt.
Mh. Vet.-Med. 20, 926 - 930 (1965)
45. Stellmacher, W.: Zur Prüfung von Grobdesinfektionsmitteln
bei Bakterien.
Arch. exp. Vet.-Med. 21, 547 - 575 (1967)

46. Stellmacher, W. und M. Schwebs:
Keimträgerversuche zur Desinfektion am
Beispiel des Newcastle Disease Virus.
Mh. Vet.-Med. 25, 381 - 385 (1970)
47. Stur, D.: Netzmittel und Desinfektionsmittel.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 185, 271 - 281
(1962)
48. Sykes, G.: Disinfection and Sterilisation.
E. and F.N. Spon Ltd. London (1958)
49. Tilley, F.W., and J.M. Schaffer:
zit. nach Wallhäußer, K.H. und H. Schmidt
S. 179 (1967)
50. Thiel, W.: Prüfung des Desinfektionsmittels "Tego 51"
zur Grob- und Stalldesinfektion gegenüber
Tuberkelbakterien.
Mh. Tierhk., Sonderteil "Die Rindertuberku-
lose und Brucellose", Heft 9, 142 - 148
(1960)
51. Trautwein, K. und J. Nassal:
Die bakterizide Wirkung von 33 vergleichend
geprüften Desinfektionsmitteln, speziell
gegenüber Tuberkulose.
Mh. Tierhk., Sonderteil "Die Rindertuber-
kulose und Brucellose", Heft 1, 1 - 10
(1958)
52. Trautwein, K., J. Nassal, Ch. Kopp und L. Karle:
Die Desinfektionswirkung von Glykolen auf
Tuberkelbakterien und ihre praktische An-
wendung.
Mh. Tierhk., Sonderteil "Die Rindertuberku-
lose", Heft 7, 171 - 187 (1955)

53. Wallhäußer, K.H. und H. Schmidt:
Sterilisation, Desinfektion, Konservierung, Chemotherapie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1967
54. Wagener, K. und W. Thiel:
Desinfektionsversuche mit neuen Tego-Präparaten gegenüber Tuberkelbakterien und tuberkulösen Infektionsstoffen.
Die Fleischwirtschaft 7, 650 - 651 (1955)
55. Weinhold, E. und A. Köhler:
Versuche am Newcastle Disease-Virus zur Erstellung eines Prüfungsschemas für viruzid wirkende chemische Desinfektionsmittel.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 85, 27 - 32 (1972)
56. Willinger, H. und G. Thiemann:
Desinfektion in der Schweinehaltung.
Wien. tierärztl. Mschr. 57, 396 - 403 (1970)
57. Woratz, H. und R. Wohlrab:
Zur Prüfung von Amphotensiden als Desinfektionsmittel.
Gesundheitswesen u. Desinf. 54, 162 (1962)
58. Yarnykk, V.S. und E.S. Tsoi:
Bacteriological control of disinfection of farm buildings.
Vet. Bull. 41, Nr. 1558 (1971)

Herrn Professor Dr. Theodor Schließer, Direktor des Institutes für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere, möchte ich für die Überlassung des Themas, sein stets gezeigtes Interesse am Fortgang der Arbeit und seine großzügige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Weber sowie Frau Becker und Herrn Dr. Nwude, die mir bei der Ausführung der experimentellen Untersuchungen wertvolle Hilfe leisteten.

Allen Mitgliedern des Instituts danke ich für das stets gezeigte Entgegenkommen und die freundliche Unterstützung bei allen Arbeiten.

Lebenslauf

Am 16. September 1943 wurde ich, Wolfgang Wallbaum, als drittes Kind des aktiven Majors der Luftwaffe Heinrich Wallbaum und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Ey in Löwenberg/Schlesien geboren. Die Volksschule besuchte ich in Heßlingen, Kreis Rinteln, von Ostern 1949 bis Ostern 1953. Von April 1953 bis Oktober 1954 besuchte ich die Staatl. Oberschule für Jungen in Rinteln und von Ostern 1954 bis zum Abitur im Februar 1962 das Hermann Billung Gymnasium in Celle.

Vom 1. 4. 1962 bis zum 31. 3. 1964 leistete ich meinen Wehrdienst bei der Bundeswehr. Im Sommersemester 1964 begann ich das Studium der Biologie an der Justus Liebig-Universität Gießen. Zum Sommersemester 1966 wechselte ich zur Veterinärmedizinischen Fakultät derselben Universität. Am 11. 6. 1971 bestand ich hier die Tierärztliche Prüfung und erhielt meine Approbation als Tierarzt am 21. 6. 1971.

Vom 1. 7. 1971 bis zum 30. 6. 1972 war ich im Institut für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere mit der Aufbereitung der vorliegenden Arbeit beschäftigt. Seit dem 15. 7. 1972 bin ich in Itzehoe/Holstein als Praxisassistent bei einem praktischen Tierarzt tätig.

